Aus der Medizinischen Universitätsklinik und Poliklinik Würzburg

Direktor: Professor Dr. med. K. Kochsiek

AUSSCHEIDUNGSVERHALTEN VON IONISIERTEM CALCIUM UND GESAMT-CALCIUM IM PAROTISSPEICHEL DES MENSCHEN BEI UNTERSCHIEDLICHER PHARMAKOLOGISCHER BEEINFLUSSUNG+

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Gertrud Schöner, geb. Antonczyk

aus Hanau

Würzburg, den 24.11.1980

1981

+Mit Unterstützung der DFG: SFB 92 "Biomund"

Aus der Medizinischen Universitätsklinik und Poliklinik Würzburg

Direktor: Professor Dr. med. K. Kochsiek

AUSSCHEIDUNGSVERHALTEN VON IONISIERTEM CALCIUM UND GESAMT-CALCIUM IM PAROTISSPEICHEL DES MENSCHEN BEI UNTERSCHIEDLICHER PHARMAKOLOGISCHER BEEINFLUSSUNG+

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Gertrud Schöner, geb. Antonczyk

aus Hanau

Würzburg, den 24.11.1980

+Mit Unterstützung der DFG: SFB 92 "Biomund"

Referent:	Prof. Dr. A. Heidland
Koreferent:	Prof. Dr. K. Kochsiek
Dekan:	Prof. Dr. K.H. Wulf

Tag der mündlichen Prüfung: 23.1.1981

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität Würzburg

M E I N E N E L T E R N

Inhaltsverzeichnis

I. Einleitung

II. Problemstellung

III. Methodischer Teil

1. Speichelkollektion
2. Chemische Analysen
3. Statistische Auswertung

IV. Ergebnisse

Pharmakologische Beeinflussung des Parotisspeichels

1. Speichelstimulation: Zitronensäure versus Pilocarpin
2. ß-Rezeptoren-Stimulation (Isoproterenol) verus -Hemmung (Propanolol)
3. Einfluß von Ouabain
4. Einfluß eines Ca-Antagonisten (Verapamil)

V. Zusammenfassung

VI. Literaturverzeichnis

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543519_0033

I. Einleitung

In jüngster Zeit hat die Analyse der Speichelzusammensetzung für die Diagnostik interner und otorhinolaryngologischer Erkrankungen an Bedeutung gewonnen. So konnten ausgeprägte Veränderungen im Elektrolytausscheidungsmuster bei Mineralocorticoid-Syndrom (46), essentiellem und renalem Hochdruck (39, 54), Digitalisintoxikation (6, 10, 78, 84, 89), Urämie (38, 47, 52, 87) und zystischer Fibrose (2, 3, 9, 85, 90) aufgedeckt werden. Einzelbeobachtungen sprechen auch für Besonderheiten der Speichelzusammensetzung bei Sjögren-Syndrom (86), Down-Syndrom (88), Sarkoidose (8), Diabetes mellitus (61), Duodenalulkus (5) und Hypercalcämie (26). Alterationen der Speichelzusammensetzung dürften auch für die Manifestation verschiedener Zahnerkrankungen (36, 58, 65) eine wichtige Rolle spielen.

Die Beispiele veranschaulichen das wachsende Interesse der klinischen Medizin an der Zusammensetzung des menschlichen Speichels unter physiologischen und pathologischen Bedingungen. Für die Beurteilung krankhafter Veränderungen des menschlichen Speichels und ihre therapeutische Beeinflussung sind jedoch grundlegende Kenntnisse über den Stofftransport im Drüsengangsystem und in den Acinuszellen zwingende Voraussetzung.

Unsere Vorstellungen über den Mechanismus der Speichelbildung gehen im wesentlichen auf die Arbeiten von Thaysen (79) zurück. Danach erfolgt die Speichelentstehung in zwei Schritten:
Im ersten Schritt wird von den Acinuszellen der Ohrspeicheldrüse ein Primärsekret gebildet, das sich in seiner Elektrolytzusammensetzung zum Blutplasma isoton und isoion verhält. Im zweiten Schritt unterliegt dann das Primärsekret während seiner Passage durch das Ausführungsgangsystem einer intensiven Bearbeitung: Natriumionen werden reabsorbiert, Kaliumionen und

Bikarbonat hingegen sezerniert. Mit Hilfe von Mikropunktions- und Mikroperfusionsuntersuchungen gelang es während der letzten Jahre, die Richtigkeit der 2-Stufen-Theorie von Thaysen voll zu bestätigen (76, 92). Die Natriumkonzentration des Endspeichels ist also gegenüber dem Primärsekret stark vermindert, während die Kaliumkonzentration über jener des Plasma liegt. Knauf und Frömter (44) beschrieben die Quantifizierung des aktiven Natrium-Transportes im Gangsystem der menschlichen Parotis mit einer mathematischen Formulierung. Die Natriumkonzentration des Endspeichels aller drei großen menschlichen Speicheldrüsen (Parotis, Submandibularis und Sublingualis) steigt mit der Flußrate exponentiell an, wobei sie sich bei unendlich hohen Flußraten asymptotisch dem Plasmawert nähert. Dagegen fällt die Speichelkaliumkonzentration mit steigenden Flußraten bis auf einen konstanten Wert, der etwa beim Dreifachen der Plasmakonzentration liegt, ab. Systematische Untersuchungen über die flußraten-abhängige Ausscheidung von divalenten Elektrolyten (Totalcalcium, Magnesium und anorganisches Phosphat) finden sich bei Kreusser et al. (45).

Die Konzentration des ionisierten Speichelcalcium ist bisher wegen methodischer Schwierigkeiten bei der Bestimmung freier Calciumionen nur vereinzelt untersucht worden (82). Mit der Entwicklung von calciumselektiven Disk-Elektroden wurde nunmehr eine Möglichkeit geschaffen, relativ problemlos freie Calciumionen im Blutplasma und in Körpersekreten zu bestimmen. Maier et al. (55) postulierten für die Ca^{2+} - Ausscheidung in der menschlichen Parotis ebenfalls eine Flußratenabhängigkeit.

Demnach liegen zwar für die Zusammensetzung des Speichels und die Konzentrationen der Inhaltsstoffe befriedigende Ergebnisse vor. Wie aber jüngere Übersichtsarbeiten (63, 76) zeigen, bestehen jedoch noch weitgehend Unklarheiten über den Mechanismus der Speichelbildung auf zellulärer Ebene.

II. Problemstellung

In der vorliegenden Arbeit sollte zunächst die Frage beantwortet werden, inwieweit bei den beiden meist gebrauchten Stimulationsarten mit Pilocarpin und Zitronensäure unterschiedliche Ausscheidungsmuster der menschlichen Parotis resultieren. Eine systematische Bearbeitung dieses Problems lag bisher nicht vor. Insbesondere war der Gehalt an ionisiertem Calcium in Zitronensäure-stimuliertem Speichel noch nicht bestimmt worden.

In den weiteren Untersuchungen wurde der Einfluß einer ß-Rezeptoren-Stimulation und -Hemmung auf die Ausscheidung von ionisiertem Calcium und Total-Calcium getestet.

Schließlich wurde geprüft, ob eine Hemmung der Na-K-ATPase durch Ouabain zusätzliche Aufschlüsse über den noch immer unklaren Wirkmechanismus des Ouabain ermöglicht. Anschließend wurde die Frage untersucht, ob Ca-Antagonisten (Verapamil) auch an den exkretorischen Speicheldrüsen einen Angriffspunkt besitzen.

Neben der Aufhellung des Wirkmechanismus der genannten Substanzen ist der Nachweis einer medikamentös induzierten Steigerung der Calciumsekretion für bestimmte Krankheitsbilder wie Speichelsteinbildung et cetera von Interesse.

Bei allen Versuchsreihen wurden simultan Messungen der Konzentrationen von Natrium, Kalium, Chlorid, anorganischem Phosphat, Totalprotein und α-Amylase vorgenommen.

III. Methodischer Teil

III.1. Speichelkollektion

Alle Versuche zur Speichelgewinnung wurden wegen der bekannten tageszeitlichen Schwankungen der Speichelzusammensetzung (2,16,17,20,64) morgens zwischen 8 und 10.00 durchgeführt. Ferner zeigt das Speichelmuster gewisse Abhängigkeiten vom Geschlecht(34,64,66). Aus diesem Grunde wurden für die vorliegenden Studien nur männliche Probanden herangezogen.

Die Testpersonen waren nüchtern und saßen während des Versuchs auf einem zahnärztlichen Untersuchungsstuhl, dessen Kopfhalterung eine entspannte Lagerung und Ruhigstellung des Kopfes ermöglichte. Um den Probanden das Offenhalten des Mundes zu erleichtern, wurde ein zahnärztlicher Mundsperrer eingesetzt. Auf diese Weise lassen sich unerwünschte Schluckreflexe weitgehend verhindern. Zur Sekretgewinnung wurde ein Polyäthylenschlauch ca. 25 mm tief in den Ductus Stenoni eingeführt. Damit die Katheterisierung des Hauptausführungsganges besser gelang, wurde das Gangostium zuvor mit dünnen Silbersonden geweitet. Zwei olivenartige Auftreibungen am proximalen Katheterende erlaubten einerseits eine Fixierung des Katheters im Gangsystem und verhinderten andererseits ein Leakage von Speichel in die Mundhöhle. Das distale Ende des Polyäthylenschlauches war über ein kurzes Zwischenstück mit einer 2-ml-Pipette verbunden. Zur Bestimmung der Flußrate wurde die Zeit registriert, die notwendig war, um die Pipette (Volumen 2 ml) mit Speichel zu füllen. Zur Gewährleistung einer anaeroben Probenentnahme wurde das Meßsystem mit N_2O gefüllt. Die Gewinnung der Einzelproben erfolgte über einen Drei-Wege-Hahn, der der Pipette vorgeschaltet war, und 2-ml-Einmalspritzen.

Das Sekret der übrigen Mundspeicheldrüsen wurde mit einem Speichelzieher abgesaugt. Zur Aufbewahrung der Proben dienten 2-ml-Vacutainer^{R}, die eine Äquilibrierung des Gasgehaltes des Speichels mit der Außenluft verhinderten. Die Effekte des Pilocarpin wurden auf folgende Weise mit jenen der Zitronensäure verglichen: An zwei aufeinander folgenden Tagen wurde bei dem gleichen Probanden einmal mit Zitronensäure (5 %) und einmal mit Pilocarpin (0,015 mg/kg s.c.) stimuliert. Angesichts des unterschiedlichen Wirkprinzips beider Substanzen wurde eine kombinierte Stimulation bewußt vermieden. Aus diesem Grunde diente zur Speichelgewinnung bei den Versuchen mit Isoproterenol, Propanolol, Ouabain und Verapamil ausschließlich die Stimulation mit Pilocarpin. Die Sammlung der Speichelproben erstreckte sich über ca. eine Stunde. Im Mittel wurden pro Versuch ca. 15 - 20 Einzelproben gewonnen.

Zur Vermeidung von Totraumeffekten des Gangsystems wurden bei der Auswertung alle vor dem Durchlaufen des Flußratenmaximums gewonnenen Proben verworfen (44).

Weiter wurden bei jedem Probanden vor der Applikation des entsprechenden Medikaments zunächst vier Proben ausschließlich mit Pilocarpin stimuliert. Diese Proben finden sich in der Auswertung als Kontrollen zusammengefaßt.

Die chemische Analyse der Einzelproben erfolgte unmittelbar nach der Speichelentnahme.

III.2. Chemische Analysen

Bei jeder Probe mit einem Volumen von 2 ml Speichel wurden folgende Analysen durchgeführt:

Der Natrium- und Kalium-Gehalt wurde in einer Verdünnung von 1 : 100 mit dem Flammenphotometer (Eppendorf) gemessen.

Für die Bestimmung des Totalcalcium wurde das Atomabsorptionsspektrometer AAS Typ Beckman verwendet. Nach der Methode von Gow (32) verdünnt man 100 µl Speichel mit 9,9 ml einer einfach verdünnten Strontiumchloridlösung zu 1 : 100. Strontiumchlorid ist dem Lanthanchlorid überlegen, da dieses selbst einen erheblichen Ca-Gehalt aufweist, wie sich in Kontrollmessungen ermitteln läßt. Dies würde bereits die Nullablesung verändern.

Für die Bestimmung der Werte war es notwendig, eine Eichkurve zu erstellen. Hierzu wurde eine Stammlösung, die mit Hilfe einer Calcium-Standardlösung (Titriol-Merck) hergestellt wurde, auf Konzentrationen von 5 - 10 µg/100 ml verdünnt. Die Standardlösungen wurden in Polyäthylengefäßen aufbewahrt, da sich bei Verwendung von Glasgefäßen eine Verunreinigung mit Calcium ergab. Wahrscheinlich löst das saure Strontiumchlorid (pH = 2,5) Calcium aus der Glaswand.

Betrieben wurde das AAS mit einem Wasserstoff-Preßluftgemisch. Für die Bestimmung der 4227 Å-Calciumlinie der Hohlkathodenlampe wurde ein Spektralphotometer (Beckman DB-G) mit einer Spaltbreite von 0,1 mm benutzt. Der Betriebsstrom betrug 10 mA.

Anorganisches Phosphat wurde mit Hilfe des Harleco^{R} Reagenzien-Sets zur Phosphorbestimmung analysiert. Die Reagenzienmischung besteht aus Ammoniummolybdat, Eisenammoniumsulfat und Polyvinylpyrrolidon. Als Reaktionsprodukt bildet sich Molybdänblau. Nach Ablauf von 10 min wurde an einem Photometer (Eppendorf) bei einer Wellenlänge von 650 nm die Extinktion gemessen, die dem Phosphorgehalt propotional ist. Die Konzentrationen an anorganischem Phosphat wurden über den mitgeführten Standard errechnet. Gegenüber der von Fiske und Subarrow (21) beschriebenen Methode entfiel hier die Enteiweißung des Speichels.

Die Bestimmung von Chlorid erfolgte am Marius-Micro-o-Counter (Firma Kipp & Zonen). Das Meßprinzip beruht auf Titration coulometrisch durch Silberionen, die durch einen konstanten Gleichstrom elektrochemisch aus einer Silberelektrode ausgeschieden werden. An den beiden Detektionselektroden liegt eine geringe Gleichspannung. Durch ein kleines Übermaß an Silberionen fließt ein Strom. Gemessen wurde nun die Zeit, die der Strom braucht, um das vorhandene Chlorid zu AgCl zu binden. Um die tatsächliche Chloridkonzentration in der Probe zu erhalten, mußte der gemessene Wert in Beziehung zu einer Standardlösung gesetzt werden.

Die α-Amylaseaktivität (13,14,15,68,77) des Parotisspeichels wurde anhand des Phadebas® Amylase-Tests quantitativ bestimmt. Dieser Test beruht auf folgender enzymatischen Reaktion: Als Substrat dient ein blaugefärbtes, durch Quervernetzung wasserunlösliches Stärkepolymer, das zur optimalen Pufferung der Reaktion mit trockenen Puffersalzen gemischt wird. Die α-Amylase spaltet nun dieses Polymer hydrolytisch auf, wobei die jetzt wasserlöslich gewordenen Spaltprodukte Farbstoffgruppen an sich binden und mit in Lösung nehmen. Die Absorption dieser blauen Lösung kann photometrisch bestimmt werden und ist direkt von der α-Amylase-Aktivität der Speichelproben abhängig, da das Ausmaß der Substratspaltung der α-Amylase-Aktivität direkt proportional ist.

Um die Differenzierung der Speichelzusammensetzung zu vervollständigen, wurde der Gehalt an Gesamteiweiß analysiert. Hierzu diente das photometrische Verfahren von Lowry (49), der die von Folin und Ciocalteu 1927 entwickelte Methode modifiziert hat. 0,5 ml einer Speichelprobe wurden mit 5 ml Reagenz gemischt. Das Reagenz enthält 48 ml 2%-iges Natriumkarbonat in 0,1 N Natronlauge und jeweils 1 ml 0,5%-iges Kupfersulfat x 5 H_2O und 1%-iges Natrium-Kalium-Tatrat. Die Proben blieben nun 10 min bei Raumtemperatur stehen. Anschließend wurden 0,5 ml Folin-Reagenz (mit Aqua destillata 1 : 1 verdünnt) zugesetzt. Eiweiß bildet mit dem Reagenz von Folin und Ciocalteu einen tiefblauen Farbstoff. Nach weiteren 10 min wurde die Extinktion bei 578 nm abgelesen. Als Standard dienten 100 mg BSA (Bovine Serum Albumin) pro ml H_2O. Der Vorteil dieser Methode beruht auf der außerordentlich großen Empfindlichkeit, die dadurch erreicht wird, daß sich 2 Farbstoffreaktionen gleichzeitig abspielen.

Ca^{2+}-Bestimmung im Speichel

Zur Meßung von ionisiertem Calcium wurde ein von Schindler und Riehmann (70,71,72) beschriebenes elektrochemisches Multimeßsystem für die Analyse strömender Flüssigkeiten und Gase verwendet. Die Anwendbarkeit dieses Meßsystems für die speziellen Gegebenheiten des Speichels (z.B. hohe Viskosität etc) zeigten Maier et al. (55, 56).

Das Meßprinzip beruht auf der Registrierung einer Potentialdifferenz, die sich zwischen einer Bezugselektrode und der eigentlichen Meßelektrode ausbildet. Bei ionenselektiven Elektroden passieren Ionen als Ladungsträger die Phasengrenze Elektrodenmaterial/Elektrolytlösung, was zur Ausbildung einer Potentialdifferenz an der Phasengrenzfläche führt.

Als ionenselektive Elektrode enthält das Multimeßsystem eine Disk-Elektrode, bestehend aus einem synthetischen, elektrisch neutralen Calciumcarrier vom Typ der Dioxakorksäure (Prof. Simon, Zürich) und einem Platindraht mit Acrylglasmantel. Den Calciumcarrier bilden scheibenförmige, ionenselektive Kunststoffe aus polymerer Matrix mit elektrisch neutralen oder geladenen Liganden, deren Oberfläche zur Vermeidung elektrokinetischer Potentiale konkav gestaltet ist. Die Kunststoffscheiben sitzen zum einen dem acrylglasummantelten Platindraht auf, zum anderen haben sie zur Meßflüssigkeit Kontakt, so daß sich, wie oben beschrieben, an der Phasengrenze eine Potentialdifferenz ausbilden kann.

Verglichen mit den bisher üblichen Elektroden mit elektrisch geladenen Liganden vom Typ der Organophosphorsäuren besitzt der synthetische, elektrisch neutrale Carrier eine höhere Selektivität für Calciumionen. Ein weiterer Vorteil dieses Carriers ist seine weitgehende pH-Unabhängigkeit (bis pH gleich 2,3) (56, 57).

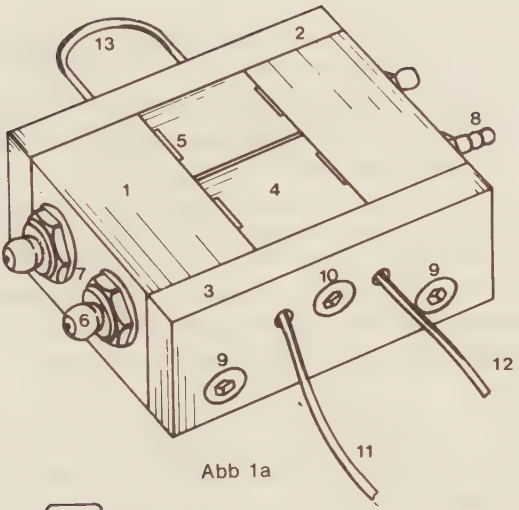

Abb 1a

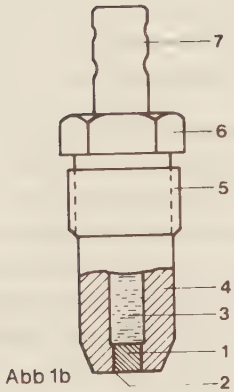

Abb 1b

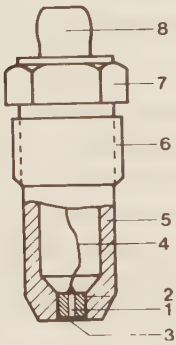

Abb 1c

Abb. 1a-c: Ionenselektives Multimeßsystem mit Sensoren und Stromschlüsselkontaktstecker (70,71,72).

Abb. 1a: Ionenselektives Multimeßsystem: 1 = Metallrahmen, 2 = Gegendruckplatte, 3 = Andruckplatte, 4 = parallelepipedischer Isolierkörper, 5 = Meßkammer, 6 = ionenselektive Disk-Elektrode (Sensor), 7 = Sechskant, 8 = Stromschlüsselkontaktstecker, 9 = Befestigungsschraube, 10 = Andruckschraube, 11 = Zufluß, 12 = Ablauf, 13 = Verbindungsschlauch

Abb. 1b: Stromschlüsselkontaktstecker: 1 = PTFE-Stopfen mit Mikrokerbe, 2 = Stromschlüsselkontaktzone, 3 = Bezugslösung, 4 = Acrylglaswandung, 5 = Gewinde, 6 = Sechskant, 7 = Verbindungsstück

Abb. 1c: Ionenselektive Disk-Elektrode: 1 = Platindraht, 2 = Acrylglasmantel, 3 = ionenselektiver Kunststoff, 4 = versilberte PTFE-isolierte Cu-Litze, 5 = Elektrodenkörper, 6 = Gewinde, 7 = Sechskant für Drehmomentschlüssel, 8 = Steckkontakt

Um die im elektrochemischen Gleichgewichtszustand der Nernstschen Gleichung folgenden Potentiale der Meßelektrode auswerten zu können, ist der Vergleich mit einer Bezugselektrode, die eine konstante Gleichspannung hat, notwendig. Als Referenzelektrode dient eine Silber/Silberchlorid-Elektrode mit einer 3 M KCl-Bezugslösung. Der elektrische Stromkreis wird über eine Kaliumchloridbrücke geschlossen.

Umgeben ist das ganze Meßsystem von einem Metallrahmen, der die Meßelemente nach dem Prinzip eines Faraday-Käfigs gegen elektrostatische Aufladungen abzuschirmen hat.

Die Kalibrierung der Elektrode erfolgte mit Standardlösungen, die 0,5 mval $CaCl_2$, 1,0 mval $CaCl_2$, 2,0 und 4,0 mval $CaCl_2$ enthielten. Um die Eichlösungen der ionalen Zusammensetzung des Speichels anzunähern, wurden jeweils 10 mval KCl und 14 mval NaCl zugesetzt. Zur Anpassung der Elektrode an Calciumionenbestimmungen im Speichel diente Poolspeichel der Parotis.

Die jeweils gemessene Potentialdifferenz wurde mit Hilfe eines Digitalelektrometers (DE 751, Fresenius) und eines Servogor-S-Kompensationsschreibers registriert. Die entsprechenden Konzentrationen der Calciumionen wurden anhand einer semilogarithmischen Eichkurve bestimmt, die zuvor aufgrund der Meßwerte für die Standardlösungen erstellt wurde. Diese Methodik erlaubt die Bestimmung von Calciumionenkonzentrationen mit einer Genauigkeit von $\pm$ 0,1-0,2 mval.

Das minimal erforderliche Meßvolumen für diese Methode beträgt 100 µl.

III.3. Statistische Auswertung

Um zu graphischen Darstellungen zu gelangen, wurde wie folgt ausgewertet (81, 83):

a) Zeitabhängige Darstellung:

Da sowohl Gesamtprotein- als auch α-Amylase-Output nicht in erster Linie flußratenbezogen sind, sondern sich in Abhängigkeit von der Zeit ändern, wurden diese Werte innerhalb von 3-Minuten-Intervallen gruppiert und für jedes Intervall der Mittelwert $\bar{x}$ berechnet:

$$\bar{x} = \frac{\sum x}{n} \qquad (1)$$

wobei $\sum$ = Summenzeichen
x = jeweiliger Wert für Protein bzw. α-Amylase
n = Anzahl der Werte

Hierbei wurde der Zeitpunkt der Medikamentenapplikation gleich dem Zeitpunkt Null gesetzt. Die Konzentrationen der vorher gewonnenen Proben wurden negativ auf der Zeitachse abgetragen.
Als ein Maß für die Streuung der Daten innerhalb eines Zeitintervalls wurde die empirische Standardabweichung SD (= Standard deviation) ermittelt:

$$SD = \pm\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n}(x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \qquad (2)$$

Der Standardfehler des Mittelwertes SEM (= standard error of the mean) ist bei einer Anzahl von n Proben gleich der Standardabweichung dividiert durch die Quadratwurzel aus der Probenzahl n:

$$SEM = \frac{SD}{\pm\sqrt{n}} \qquad (3)$$

b) Flußratenabhängige Darstellung:

Wie verschiedentlich (46, 47) gezeigt werden konnte, ist für die übrigen Parameter allein die flußratenabhängige Darstellung sinnvoll. Für die Auswertung wurde nur der Flußratenbereich bis 2,5 ml/min berücksichtigt.

Um durch die Punktwolken, die beim Auftragen des entsprechenden Parameters gegen die Flußrate entstehen, Anpassungskurven legen zu können, wurde die Rechenanlage TR 440 der Universität Würzburg[+] eingesetzt.

Die relativ große Streuung der Einzelwerte schloß die Verwendung einer e-Funktion aus. Die durch kubische, quadratische und lineare Approximation ermittelten Ausgleichskurven kleinster Streuung wurden untereinander verglichen. Kubische und quadratische Approximation differierten kaum. Für die graphische Darstellung wurde demnach die rechnerisch bequemer zu handhabende quadratische Approximation gewählt. Für den Kurvenverlauf gilt folgende mathematische Beschreibung:

$$y = A \times X^2 + B \times X + C \qquad (4)$$

Mit Hilfe der obenstehenden Beziehungen (1) und (2) wurden jeweils für die Kontrolle und die medikamentabhängigen Werte die Mittelwerte und Standardabweichungen über den gesamten Flußratenbereich berechnet.

c) Statistische Tests

Eine Vergleichbarkeit zwischen Kontrollen und Medikamentwirkung und zwischen beiden Stimulationsmodi resultiert aus der Verbundenheit zweier Stichproben (d.h. Probenentnahme bei demselben Probanden zu unterschiedlichen Zeitpunkten).

[+]Programmierung Dr. Imme Haubitz

Die Daten wurden zunächst auf Normalität überprüft, da die Anwendung des Student-Tests (T-Test) Normalverteilung der Werte voraussetzt. Zugrunde gelegt wurden eine zweiseitige Prüfung und ein Signifikanzniveau bzw. eine Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0{,}005$.
Für die Auswertung wurde außer dem T-Test innerhalb von Variablen noch der F-Test herangezogen, der über die Verschiedenheit von Varianzen zweier Verteilungsfunktionen Aussagen macht.

IV.1. Speichelstimulation: Zitronensäure versus Pilocarpin (n = 16)

Stimulation mit Pilocarpin führte zu einer mittleren Flußrate von 1,39 ± 1,1 ml/min. Bei Zitronensäuregabe betrug der Mittelwert dagegen 0,62 ± 0,38 ml/min. Unter Zitronensäurestimulation war demnach die Flußrate signifikant vermindert.

Natrium

Unter Pilocarpin-induzierter Stimulation lag die Natriumkonzentration über einen Flußratenbereich bis 2,5 ml/min im Mittel bei 39,5 ± 26,7 mEq/l. Unter Zitrat dagegen erreichten die Werte im Mittel 14,4 ± 6,9 mEq/l. Demnach war unter Zitronensäuregabe die Natriumexkretion signifikant vermindert.

Kalium

Für Kalium lagen die Verhältnisse genau umgekehrt: Pilocarpinstimulation führte zu einer mittleren Konzentration von 15,9 ± 4,1 mEq/l. Unter Zitronensäure war die Kaliumsekretion mit 22,3 ± 2,3 mEq/l im Mittel signifikant gegenüber der mittleren Pilocarpin-Konzentration erhöht.

Ca^{2+}

Als mittlere Ca^{2+}-Konzentration ergab sich für einen Flußratenbereich bis 2,5 ml/min 1,5 ± 0,3 mEq/l für Pilocarpin-stimulierten Speichel. Unter Anwendung von Zitronensäure lagen die mittleren Konzentrationen bei 0,6 ± 0,13 mEq/l. Folglich war unter Pilocarpin die Ca^{2+}-Ausscheidung signifikant erhöht.

Totalcalcium

Unter Pilocarpin betrug die Konzentration des Totalcalcium im Mittel 3,2 ± 0,7 mEq/l, unter Zitronensäure dagegen 1,4 ± 0,28 mEq/l. Der Gehalt des Zitronensäure-stimulierten Parotisspeichels an Totalcalcium war signifikant erniedrigt.

Bei beiden Stimulationsarten war das Verhältnis Ca^{2+}/Ca_{total} über den gesamten Flußratenbereich konstant. Nach Pilocarpinstimulation war das Verhältnis signifikant höher als unter Zitronensäurestimulation.

Chlorid

Für Chlorid ließ sich unter Pilocarpin eine mittlere Konzentration von 37,9 $\pm$ 17 mEq/l berechnen, unter Anwendung von Zitronensäure 16,8 $\pm$ 5,7 mEq/l. Pilocarpinstimulation führte zu einer signifikanten Erhöhung der Chloridkonzentration.

Phosphat

Die Phosphatkonzentrationen lagen für beide Stimulationsarten etwa auf dem gleichen Niveau: 9,5 $\pm$ 2,2 mg/dl Phosphat bei Injektion von Pilocarpin, 12,7 $\pm$ 2,2 mg/dl unter Zitronensäure.

Totalproteine

Die Konzentration von Totalprotein, die flußratenunabhängig ist, war unter Pilocarpin mit 259,0 $\pm$ 117,8 mg/dl im Vergleich zu Zitronensäure mit 162,1 $\pm$ 109,3 mg/dl signifikant erhöht.

α-Amylase

Die α-Amylase-Konzentration lag unter Pilocarpin (294,2 x 10^3 $\pm$ 98,9 x 10^3 U/l) verglichen mit Zitronensäure (192,7 x 10^3 $\pm$ 64,5 x 10^3 U/l) signifikant höher.

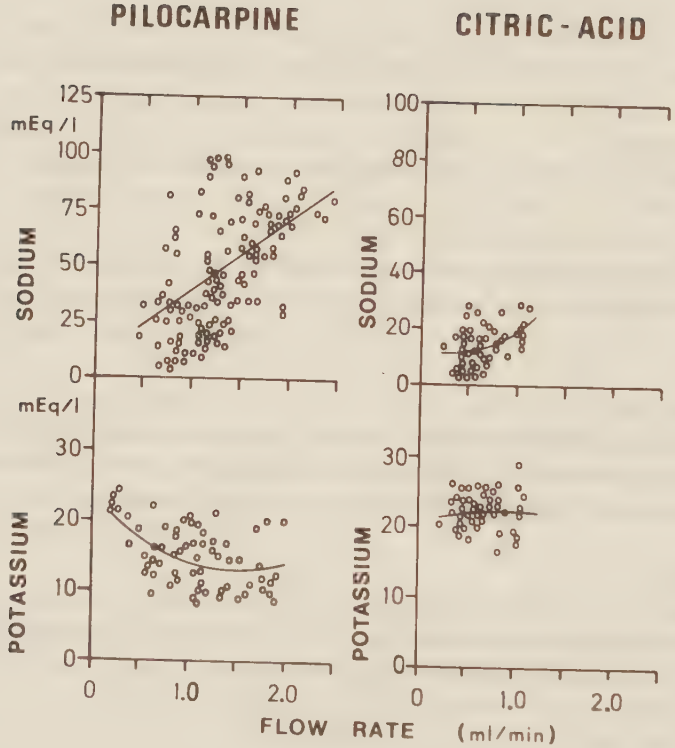

Abb. 2: Flußratenabhängige Darstellung der Natrium- und Kaliumkonzentrationen unter Pilocarpin- bzw. Zitronensäure-stimulation

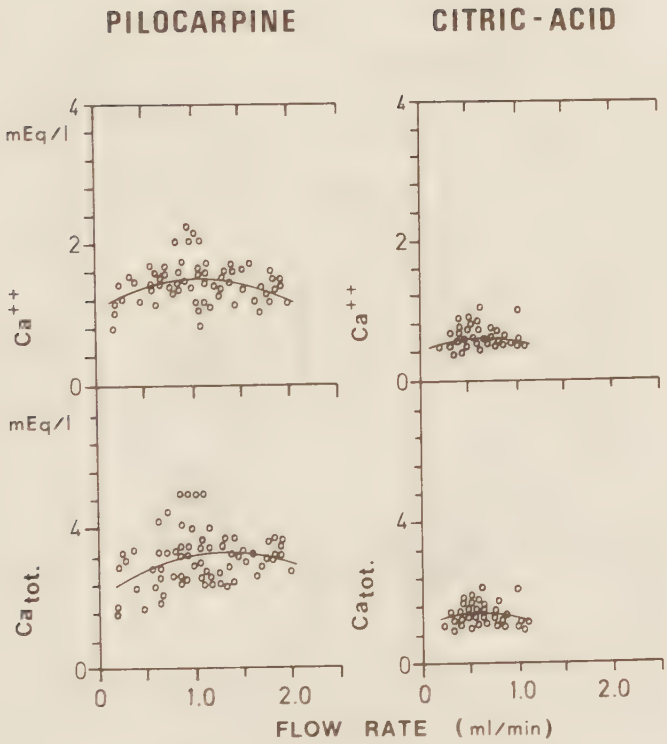

Abb. 3: Flußratenabhängige Darstellung der Calciumionen- und Totalcalciumkonzentrationen unter Pilocarpin- bzw. Zitronensäurestimulation

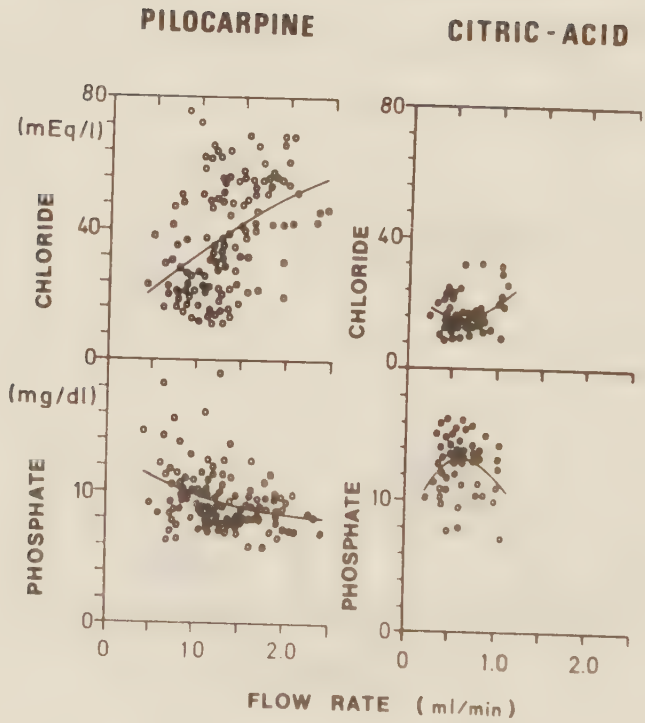

Abb. 4: Flußratenabhängige Darstellung der Chloridionen- und Phosphatkonzentrationen unter Pilocarpin- bzw. Zitronensäurestimulation

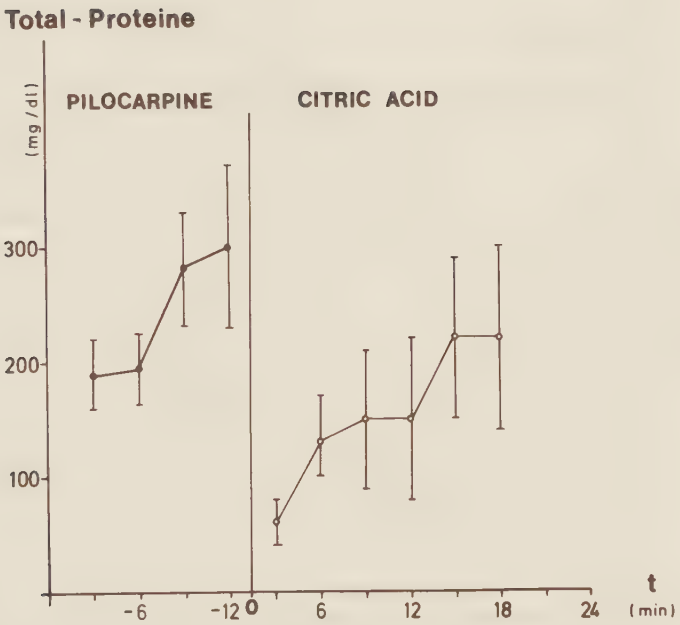

Abb. 5: Totalprotein-Output unter Pilocarpin- bzw. Zitronensäurestimulation in Abhängigkeit von der Zeit

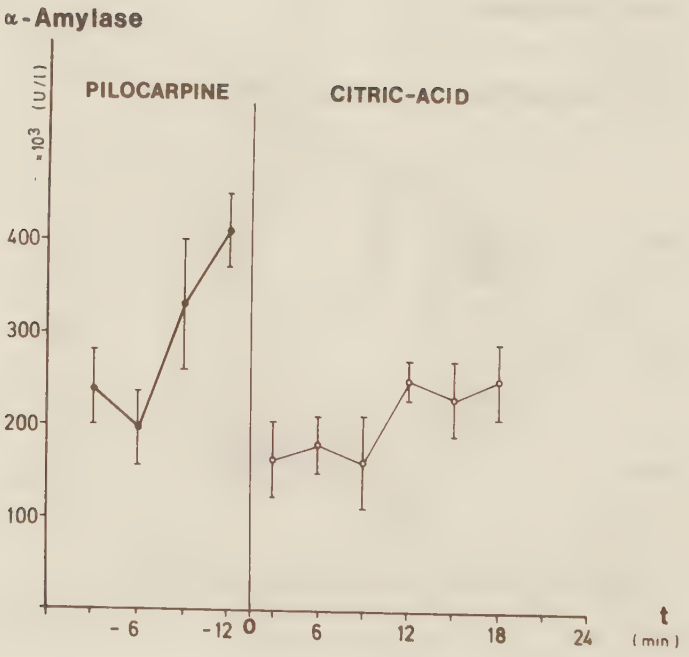

Abb. 6: α-Amylase-Output unter Pilocarpin- bzw. Zitronensäurestimulation in Abhängigkeit von der Zeit

Diskussion

Für die Untersuchung der Speicheldrüsen des Menschen werden überwiegend zwei Stimulationsmodi verwandt. Zum einen wird versucht, die Speichelsekretion parasympathisch zu steigern, wobei die meisten Untersucher den Wirkstoff Pilocarpin wählen. Zum anderen besteht die Möglichkeit einer gustatorischen Stimulation mit Zitronensäure. Teilweise werden auch beide Mechanismen gleichzeitig zur Sekretionsförderung ausgenutzt. Wie in mehreren Arbeiten dargelegt (2,18,64), wird die Zusammensetzung des Speichels von beiden Stimulationsmechanismen unterschiedlich beeinflußt. Mandel et al. (60) fanden in einer vergleichenden Studie Unterschiede in der Konzentration von α-Amylase, Totalprotein und Totalcalcium. Die Mittelwerte der drei gemessenen Parameter lagen unter Pilocarpinstimulation deutlich über jenen Werten, die durch Zitronensäure erzielt werden konnten. Die Phosphatwerte waren bei beiden Stimulationsmechanismen etwa gleich hoch, dagegen bestand unter Zitronensäure im Vergleich zu Pilocarpin eine Tendenz zu niedrigeren Werten für monovalente Ionen (Na und Cl).

Für ionisiertes Calcium liegen bisher nur Ergebnisse nach Pilocarpin-Stimulation im Parotisspeichel vor (55). Die vorliegende Untersuchung war als eine Vergleichsstudie konzipiert, wobei neben dem ionisierten Calcium das Ausscheidungsmuster der wichtigsten übrigen Ionen sowie der Totalprotein- und α-Amylase-Output getestet wurden. Für die α-Amylase-Aktivität, Totalprotein und Totalcalcium entsprechen die hier gefundenen Werte den Ergebnissen von Mandel (60). Dawes hatte ebenfalls deutlich erhöhte Protein- und Calcium-Werte im Pilocarpin-stimulierten menschlichen Parotisspeichel im Gegensatz zu gustatorischer Stimulation gefunden (18).
Zusätzlich war unter Pilocarpin die Konzentration von ionisiertem Calcium erhöht.

Die unterschiedliche Antwort der Parotis auf die beiden Stimulationsmechanismen beruht nach Schneyer und Hall (75) und Schneyer (74) auf zusätzlichen nicht-cholinergen Effekten des Pilocarpin. Diese betreffen insbesondere eine Stimulation der ß-adrenergen Rezeptoren mit konsekutiver Erhöhung der Totalprotein- und Gesamtcalcium-Exkretion. Die indirekte Stimulation erfolgt dabei über das Ganglion cervicale superior und postganglionäre Fasern. Schon 1954 hatte Trendelenburg (80) bei Katzenversuchen festgestellt, daß Pilocarpin via Ganglion cervicale superior wirkt.

Der Calcium-Gehalt im Drüsensekret der Parotis ist möglicherweise für den transepithelialen Na/K-Transport von Bedeutung. So beobachteten wir bei hoher Konzentration von ionisiertem Calcium, d.h. nach Pilocarpin-Stimulation, eine hohe flußraten-abhängige Natrium-Konzentration und niedrige Kalium-Konzentration. Nach Zitronensäure-Stimulation war dagegen der niedrige Calciumionen-Gehalt des Speichels mit vergleichsweise niedrigem Natrium- und höherem Kalium-Gehalt verbunden. Für eine gegenseitige Beeinflußung des Calcium- und Natrium-Transportes sprechen auch Befunde am Nierentubulus, die von Fülgraff und Heidenreich (29) bei Mikropunktionsexperimenten gewonnen wurden. Dieser Beobachtung entsprechend, ergibt sich bei im Vergleich zur Zitronensäure-Stimulation hohen Calciumwerten unter Pilocarpin eine verminderte Reabsorption von Natriumionen und damit ebenfalls eine verminderte Kaliumsekretion. Natriumkonzentration liegen höher, Kaliumkonzentrationen niedriger bei Pilocarpinapplikation. Die von Mandel (60) beschriebenen Tendenzen für das Verhalten der übrigen monovalenten Ionen unter Pilocarpin verglichen mit Zitronensäure konnten durch die oben geschilderten Versuche nicht bestätigt werden.

Die höhere Calciumionen-Konzentration unter Pilocarpin könnte den erhöhten α-Amylase-Output erklären. So ist die Freisetzung von α-Amylase aus den Zymogengranula von der Calciumkonzentration abhängig (69, 76, 91).

Diese Ergebnisse sprechen eindeutig für eine Abhängigkeit der Speichelzusammensetzung von der Stimulationsart. Zwischen Zitronensäure und Pilocarpinapplikation bestehen gravierende Unterschiede im Ausscheidungsmuster. Aus diesem Grunde ist es notwendig, die einmal gewählte Stimulationsart konsequent beizubehalten, um vergleichbare Resultate zu erzielen.

IV.2. ß-Rezeptoren-Stimulation (Isoproterenol) versus -Hemmung (Propanolol)

Isoproterenol-Stimulation (n = 10)

In dieser Versuchsanordnung wurde Isoproterenol in einer Dosis von 0,03 µg/kg/min für einen Zeitraum von 15 Minuten gleichmäßig infundiert. Bei dieser Dosis nahm die Herzfrequenz eines Gesunden durchschnittlich um 20 Schläge/min zu (12,27,28,31). Nach Beendigung der Infusion sank die Herzfrequenz im Mittel innerhalb von 5 min auf den Ausgangswert ab. Der Blutdruck stieg systolisch um ca. 30 mm Hg während der Infusion an, der diastolische Druck blieb dagegen konstant. EKG-Kontrollen vor Versuchsbeginn dienten zur Überprüfung der normalen Herzfunktion des Probanden.

Natrium

Die Natriumkonzentration über einen Flußratenbereich bis 2,5 ml/min war im Mittel (30,6 $\pm$ 18,8 mEq/l) während der Infusion gegenüber den Kontrollen (Mittelwert: 39,5 $\pm$ 26,7 mEq/l) leicht erniedrigt. Dies zeigt Abb. 7 durch einen leicht verzögerten Anstieg der Werte unter Isoproterenol.

Kalium

Unter Isoproterenol zeigt die graphische Darstellung eine Umkehrung der Flußraten-Konzentrations-Beziehung: Mit steigender Flußrate erhöhte sich die Kaliumkonzentration bis auf 20 mEq/l. Die mittleren Kaliumkonzentrationen (13,1 $\pm$ 3,2 mEq/l) unterschieden sich jedoch nicht signifikant (Kontrolle: 15,9 $\pm$ 4,2 mEq/l).

Ca^{2+}

Das Ausscheidungsmuster des ionisierten Calcium bei Isoproterenolgabe (Mittelwert: 1,5 $\pm$ 0,23 mEq/l) differierte nicht von demjenigen der Kontrollen (Mittelwert:1,5 $\pm$ 0,3 mEq/l). Auffallend war dabei ein Konzentrationsabfall bei steigenden Flußraten.

Totalcalcium

Der Verlauf der Totalcalcium-Konzentration in Abhängigkeit von der Flußrate glich dem Verhalten des ionisierten Calcium, wobei unter Isoproterenol die mittlere Konzentration mit 3,6 $\pm$ 0,6 mEq/l deutlich über den Kontrollwerten lag (3,1 $\pm$ 0,7 mEq/l).

Chlorid

Die Chloridausscheidung wurde durch die Infusion von Isoproterenol (Mittelwert: 21,4 $\pm$ 11,0 mEq/l) gegenüber den Kontrollen (37,9 $\pm$ 17,0 mEq/l) erniedrigt.

Phosphat

Auf die Konzentrationen von anorganischem Phosphat zeigte die ß-adrenerge Stimulation (Mittelwert: 10,7 $\pm$ 2,3 mg/dl) gegenüber den Kontrollen (Mittelwert: 9,5 $\pm$ 2,2 mg/dl) keine Wirkung.

Totalprotein

Der Protein-Output des Speichels war unter Isoproterenol mit 401,3 $\pm$ 126,1 mg/dl signifikant gegenüber den Kontrollen (288,4 $\pm$ 93,1 mg/dl) erhöht.

α-Amylase

Entsprechend dem Verhalten des Gesamtproteins fanden sich bei den Kontrollen (219,0 x 10^3 $\pm$ 58,6 x 10^3 U/l) deutlich niedrigere Konzentrationen. Unter Isoproterenol betrug der mittlere Wert 364,1 x 10^3 $\pm$ 192,6 x 10^3 U/l.

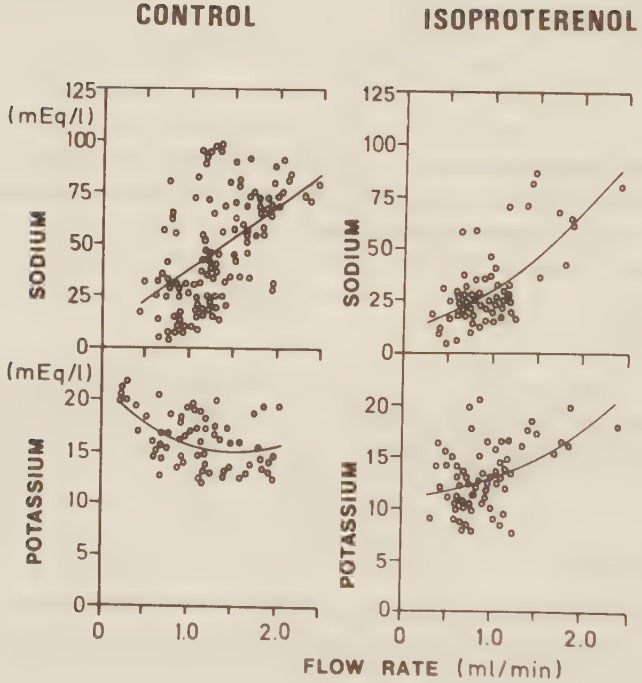

Abb. 7: Flußratenabhängige Darstellung der Natrium- und Kaliumkonzentrationen unter Isoproterenol

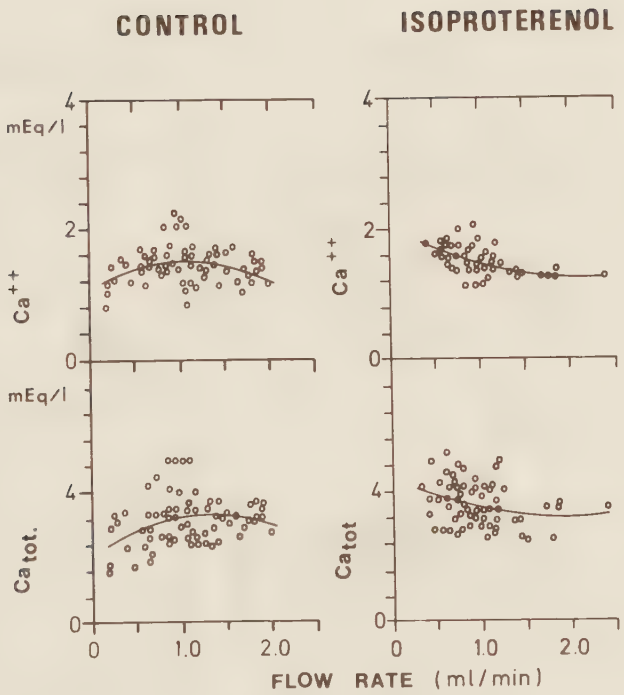

Abb. 8: Flußratenabhängige Darstellung der Calciumionen- und Totalcalciumkonzentrationen unter Isoproterenol

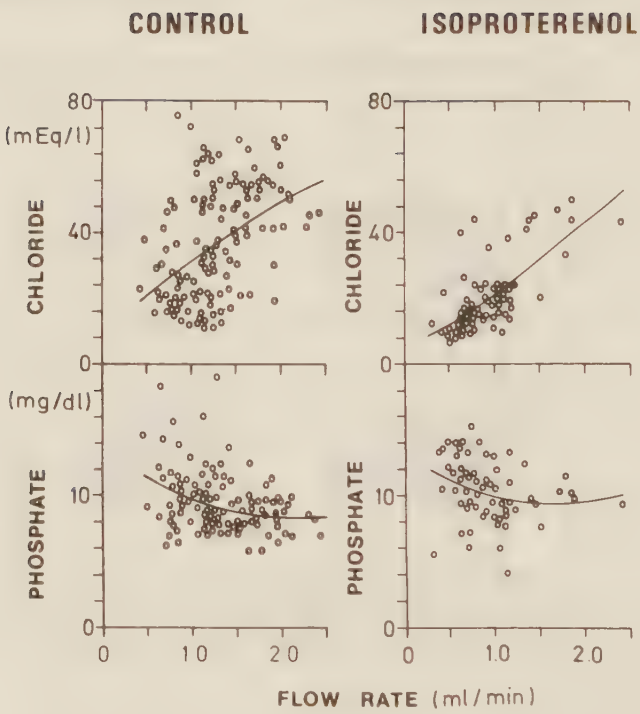

Abb. 9: Flußratenabhängige Darstellung der Chloridionen- und Phosphatkonzentrationen unter Isoproterenol

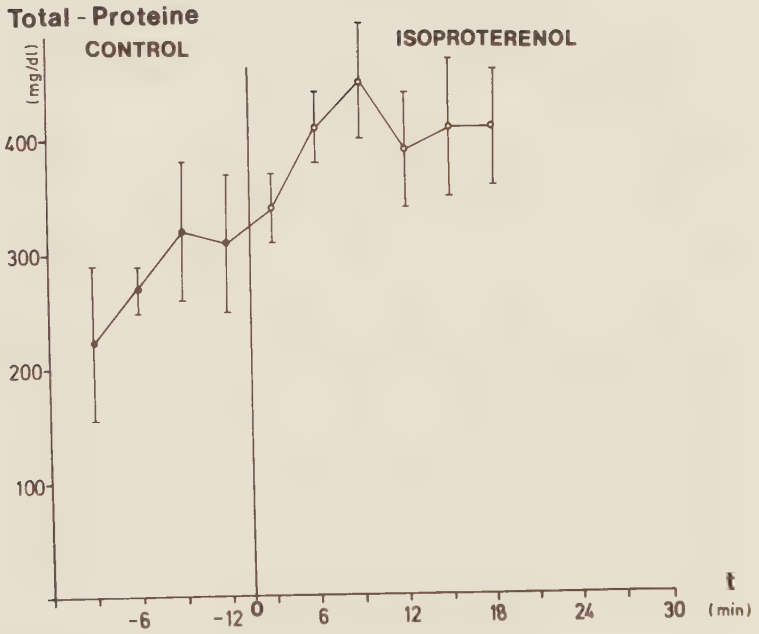

Abb. 10: Totalprotein-Output unter Isoproterenol in Abhängigkeit von der Zeit

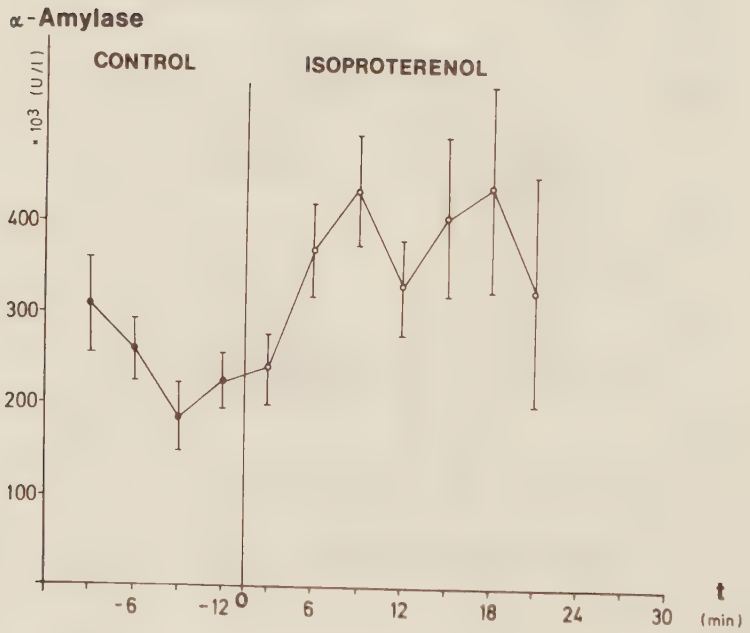

Abb. 11: α-Amylase-Output unter Isoproterenol in Abhängigkeit von der Zeit

Diskussion

Schneyer (73) beobachtete bei chronischer Isoproterenolgabe bei der Ratte eine Vergrößerung der Parotis, hervorgerufen durch Größenwachstum der einzelnen Zellen, besonders der Acinuszellen. Am Anfang der Isoproterenol-Behandlung waren Mitosen nachweisbar, die jedoch später sistierten. Funktionelle Untersuchungen des Speichels ergaben eine Erhöhung des α-Amylase-Outputs und der Kaliumsekretion. Zengo (93) erwähnte außerdem eine Erhöhung von Gesamtprotein und Totalcalcium.

An menschlichen Speicheldrüsen konnten Katz und Mandel (41) den tierexperimentell gefundenen Anstieg des Totalproteins und der α-Amylase bestätigen. Von den Elektrolyten zeigte sich das Totalcalcium erhöht, während die monovalenten Ionen unverändert blieben.

In den eigenen Untersuchungen an der menschlichen Parotis ergab sich ebenfalls eine signifikante Erhöhung des Gesamtprotein und des α-Amylase-Output, wodurch die bisherigen Angaben eine Bestätigung erfuhren. Die Erhöhung des Totalcalcium deckt sich mit den Arbeiten von Mandel und Katz (59). Die bislang offene Frage, ob dieser Anstieg die proteingebundene oder die ionisierte Calcium-Fraktion betrifft, konnte aufgrund der eigenen Studien definitiv beantwortet werden. So blieb die Konzentration des ionisierten Anteils konstant, so daß der Anstieg des Totalcalcium nur mit einer Erhöhung des proteingebundenen Anteils erklärt werden kann.

Für die Isoproterenol-induzierte Erhöhung der Totalprotein- und α-Amylase-Sekretion diskutierten Mandel und Katz (59) eine Beeinflussung der sekretorischen Granula in den Acinuszellen. Die Autoren vermuten, daß Isoproterenol die Ausschleusung sekretorischer Granula pro Zeiteinheit beschleunigt, woraus die Erhöhung der eiweißhaltigen Komponenten resultiert. Selbst bei einer Einzeldosis Isoproterenol konnten sie eine stimulierte Sekretion in den Acinuszellen der menschlichen Speicheldrüsen beobachten.

Zengo et al. (93) nehmen aufgrund ihrer Versuche an Rattenspeicheldrüsen an, daß der erhöhte Protein-Output nicht auf einer Verarmung der Speicher, sondern auf einer vermehrten Synthese beruht.

Obwohl Isoproterenol eine ausgeprägte ß-adrenerge Wirkweise mit systolischem und diastolischem Druckabfall bei Katzen besitzt (35), fanden wir bei der kombinierten Gabe mit Pilocarpin eine insofern paradoxe Reaktion des Gefäßsystems, als der systolische Blutdruck um 30 mm Hg anstieg bei nahezu unverändertem diastolischen Druck. Dieser Effekt wird von Hamilton (35) mit einer Interaktion des Isoproterenol mit dem gleichzeitig applizierten Pilocarpin erklärt. Nach seiner Meinung soll Isoproterenol in Anwesenheit eines cholinomimetischen Agens in die adrenergen Nervenendigungen aufgenommen werden und dort die Freisetzung von Noradrenalin stimulieren. Infolge dieser intrazellulären Bindung könnte weniger Isoproterenol für die Wechselwirkung mit peripheren ß-adrenergen Rezeptoren zur Verfügung stehen und deshalb zu einer geringeren Gefäßdilatation führen. Das freigesetzte Noradrenalin übt anschließend einen vasokonstriktorischen Effekt aus. Rand und Varma (67) dagegen sehen das Wirkprinzip von Pilocarpin, das eine erhöhte Antwort auf sympathische Stimulation hervorruft, in einer Stimulation chromaffiner Zellen.

Propanolol-Stimulation (n = 7)

Jedem Probanden wurden für diese Versuchsreihe 5 mg Propanolol langsam i.v. injiziert. Dabei fiel die Pulsfrequenz signifikant von 81 ± 5 auf 69 ± 4 Schläge/min. Dagegen hatte die Dosis von 5 mg keinen Effekt auf das arterielle Blutdruckverhalten (41).

Natrium

Unter der ß-blockierenden Wirkung des Propanolol war die Natriumkonzentration über einen Flußratenbereich bis 2,5 ml/min im Mittel (33,9 ± 15,6 mEq/l) signifikant gegenüber den Normalwerten (39,5 ± 26,7 mEq/l) erniedrigt.

Kalium

Die Kaliumkonzentration unter Propanolol unterschied sich nur insignifikant von den Normalwerten (15,9 ± 4,1 mEq/l). Sie tendierte unter der ß-Blockade zu niedrigeren Konzentrationen (12,6 ± 2,7 mEq/l).

Ca^{2+}

Als Mittelwert der Ca^{2+}-Konzentration unter Propanolol berechnete sich ein Wert von 1,6 ± 0,2 mEq/l. Bei den Kontrollen wurde eine mittlere Konzentration von 1,4 ± 0,28 mEq/l gefunden. Besonderer Erwähnung bedarf, daß unter Propanolol mit steigender Flußrate ein Rückgang des ionisierten Calcium festgestellt wurde.

Totalcalcium

Die Totalcalcium-Konzentration zeigte jedoch keinen Unterschied der Werte unter ß-Blockade (3,1 ± 0,3 mEq/l) gegenüber den Kontrollen (3,1 ± 0,7 mEq/l). Eine Flußraten-Konzentrationsbeziehung bestand unter ß-Blockade nicht mehr.

Chlorid

Unter Propanolol tendierte die Chloridkonzentration (32,6 ± 9,7 mEq/l) analog zum Verhalten des Natrium zu niedrigeren Werten. Der Unterschied zu den Kontrollen (37,9 ± 17,0 mEq/l) ließ sich jedoch nicht statistisch verifizieren.

Phosphat

Unter Propanololapplikation ergab sich eine mittlere Konzentration von 8,7 ± 1,4 mg/dl. Der Kontrollwert betrug 9,5 ± 2,2 mg/dl. Mithin bestand kein Unterschied.

Totalprotein

ß-Blockade durch Propanolol (112,4 ± 25,9 mg/dl) führte zu einem signifikanten Abfall des Protein-Output (Kontrollwert: 219,5 ± 55,1 mg/dl).

α-Amylase

Ebenso fand sich bei Gabe von Propanolol ($210,5 \times 10^3 \pm 81,6 \times 10^3$ U/l) eine signifikante Verminderung der α-Amylase-Konzentration ($367,2 \times 10^3 \pm 117,5 \times 10^3$ U/l). 30 min nach Propanololapplikation war der α-Amylase-Output auf ein Drittel abgesunken.

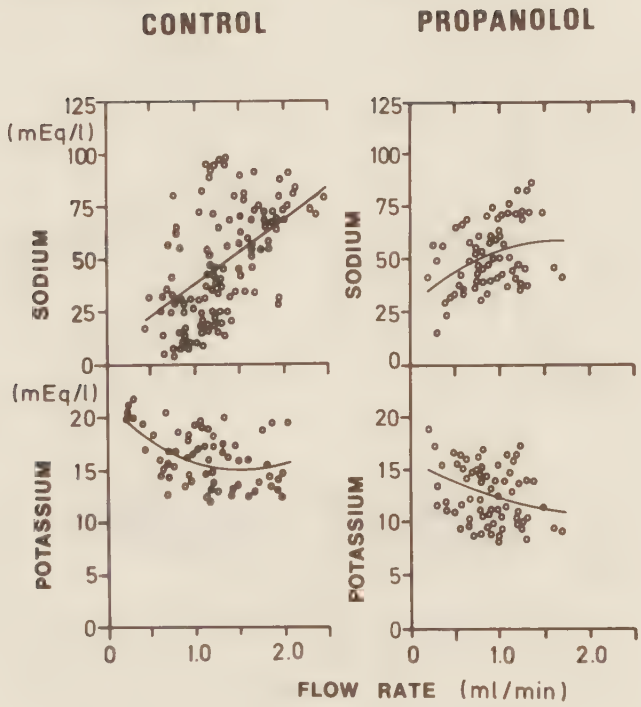

Abb. 12: Flußratenabhängige Darstellung der Natrium- und Kaliumkonzentrationen unter Propanolol

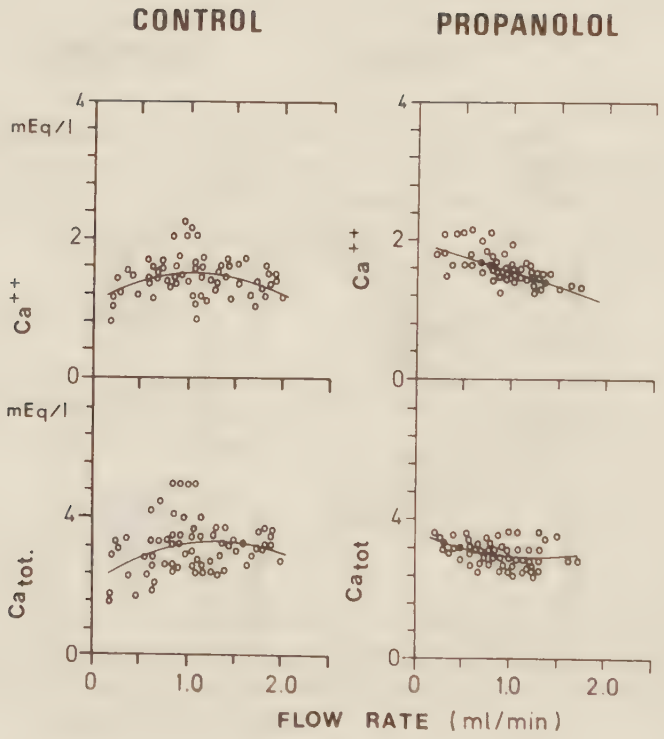

Abb. 13: Flußratenabhängige Darstellung der Calciumionen- und Totalcalciumkonzentrationen unter Propanolol

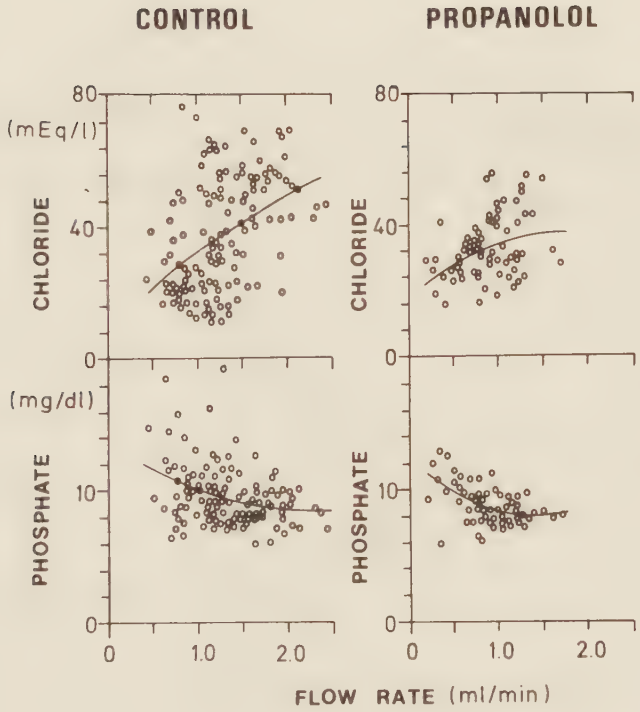

Abb. 14: Flußratenabhängige Darstellung der Chloridionen- und Phosphatkonzentrationen unter Propanolol

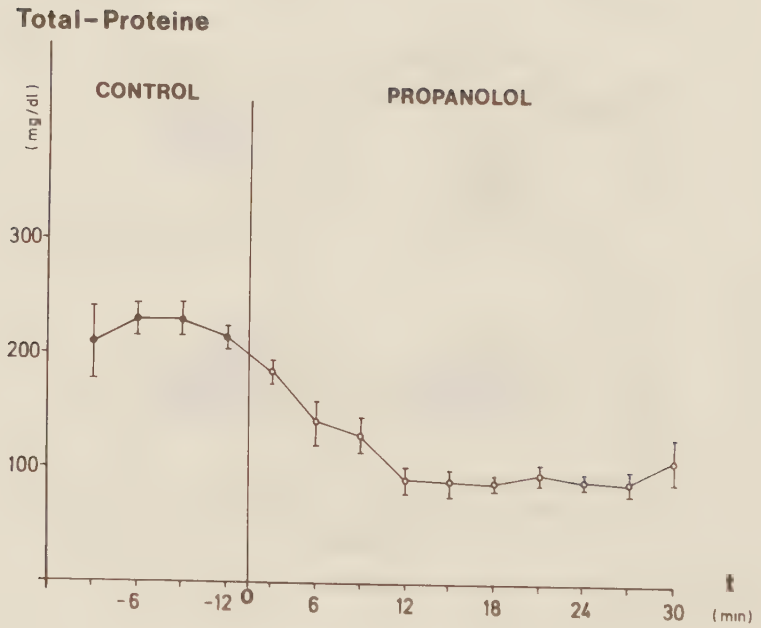

Abb. 15: Totalprotein-Output unter Propanolol in Abhängigkeit von der Zeit

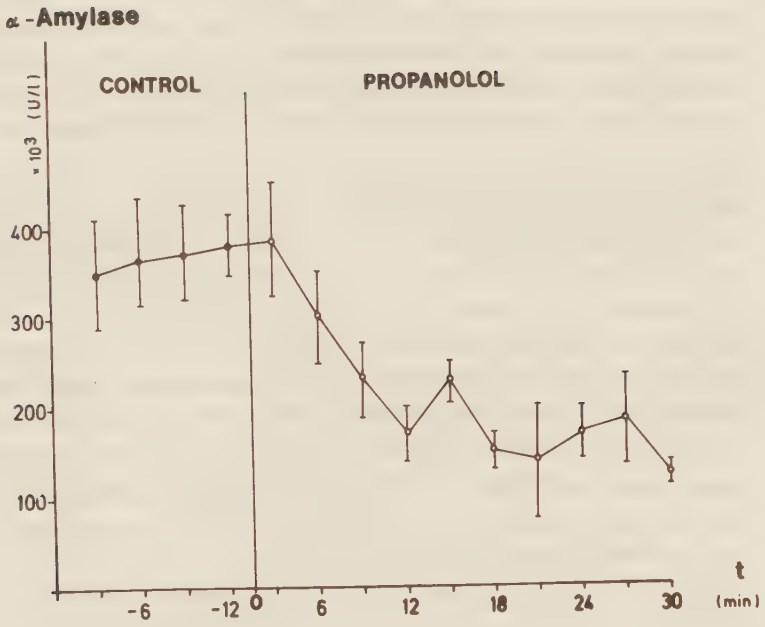

Abb. 16: α-Amylase-Output unter Propanolol in Abhängigkeit von der Zeit

Diskussion

Propanolol blockiert in seiner Eigenschaft als nicht selektives ß-Sympathicolyticum sowohl $ß_1$- als auch $ß_2$-Rezeptoren, ohne dabei selbst die ß-Rezeptoren zu stimulieren. Im Gegensatz zu anderen ß-Rezeptoren blockierenden Substanzen besitzt Propanolol keine intrinsic activity (25).

Dementsprechend findet man unter Propanolol ein Ausscheidungsmuster, das sich zu demjenigen des Isoproterenol weitgehend konträr verhält. Dem erhöhten Gesamtprotein- und α-Amylase-Output unter ß-Rezeptoren-Stimulation stand die hochsignifikante Erniedrigung dieser Parameter unter ß-Blockade gegenüber (7,41,76).

Bei Abfall der Totalprotein-Konzentration würde man zugleich einen Rückgang der proteingebundenen Calciumfraktion erwarten. Überraschenderweise ergaben jedoch unsere Studien keinen Abfall von Totalcalcium, allein die ionisierte Fraktion war im niedrigen Flußratenbereich erhöht. Den von Matthiesen (62) aufgezeichneten leichten Abfall der Totalcalciumkonzentrationen unter ß-Blockade konnten wir nicht bestätigen. Allerdings bleibt noch zu klären, worauf die gleichbleibende Totalcalciumkonzentration unter Propranolol zurückzuführen ist.

Außer einer schwierig zu beurteilenden Konzentrationsänderung monovalenter Ionen unter Propanolol war das Ausscheidungsmuster der übrigen Elektrolyte unverändert.

IV.3. Einfluß von Ouabain (n = 9)

In dieser Versuchsreihe wurde jedem Probanden Ouabain (Strophantin-g) in einer Dosis von 0,25 mg intravenös injiziert.

Natrium

Unter Ouabain fand sich eine mittlere Natriumkonzentration von 51,7 ± 19,2 mEq/l. Für die Kontrollwerte ergab sich dagegen ein Mittelwert von 39,5 ± 26,7 mEq/l. Unter Berücksichtigung der relativen Streuung der Einzelwerte bei den Kontrollen resultierte eine deutliche Erhöhung der Natriumausscheidung unter Ouabain.

Kalium

Im Unterschied zu Natrium bestand für Kalium eine signifikant erniedrigte Konzentration (10,7 ± 2,7 mEq/l) gegenüber den Kontrollen (14,8 ± 4,1 mEq/l).

Ca^{2+}

Die mittlere Calciumkonzentration, die unter Pilocarpinstimulation beobachtet wurde, betrug 1,4 ± 0,28 mEq/l. Ouabaingabe bewirkte eine leicht erhöhte Ausscheidung auf 1,6 ± 0,16 mEq/l. Eine Flußraten-Konzentrationsbeziehung bestand nicht.

Totalcalcium

Das Ausscheidungsmuster des Totalcalcium verhielt sich entsprechend dem des ionisierten Calcium. Applikation von Ouabain steigerte die Konzentration von Totalcalcium auf 3,4 ± 0,75 mEq/l (Kontrolle: Mittelwert: 3,1 ± 0,7 mEq/l). Der steile Abfall der mathematischen Ausgleichskurve bei Flußraten über 1,5 ml/min ist nicht sicher beurteilbar, da in diesem Flußratenbereich nur eine geringe Anzahl von Meßwerten gewonnen werden konnte.

Chlorid

Die unter Ouabaineinfluß gemessene mittlere Chloridkonzentration von 37,0 ± 12,9 mEq/l unterschied sich nicht signifikant von den Kontrollen (Mittelwert: 37,9 ± 17,0 mEq/l).

Phosphat

Der Phosphatgehalt des Speichels unter Ouabain (Mittelwert: 9,3 ± 2,2 mg/dl) entsprach im wesentlichen dem Ausscheidungsmuster, das bei den Kontrollen gefunden wurde (Mittelwert: 9,5 ± 2,2 mg/dl).

Totalprotein

Gabe von Ouabain ließ den Protein-Output geringfügig abfallen. Der mittlere Kontrollwert lag mit 172,6 ± 67,8 mg/dl höher als der unter Ouabain berechnete Mittelwert (148,3 ± 46,1 mg/dl).

α-Amylase

Die α-Amylase- Ausscheidung unter Ouabain (Mittelwert: 390,7 x 10^3 ± 142,5 x 10^3 U/l) zeigte dagegen im Vergleich mit den Kontrollen (Mittelwert: 351,7 x 10^3 ± 108,4 x 10^3 U/l) keine Unterschiede.

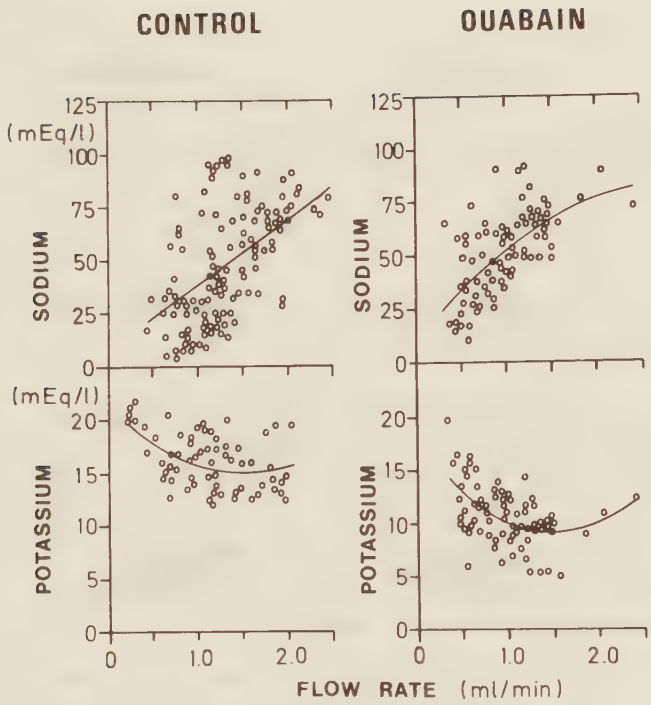

Abb. 17: Flußratenabhängige Darstellung der Natrium- und Kaliumkonzentrationen unter Ouabain

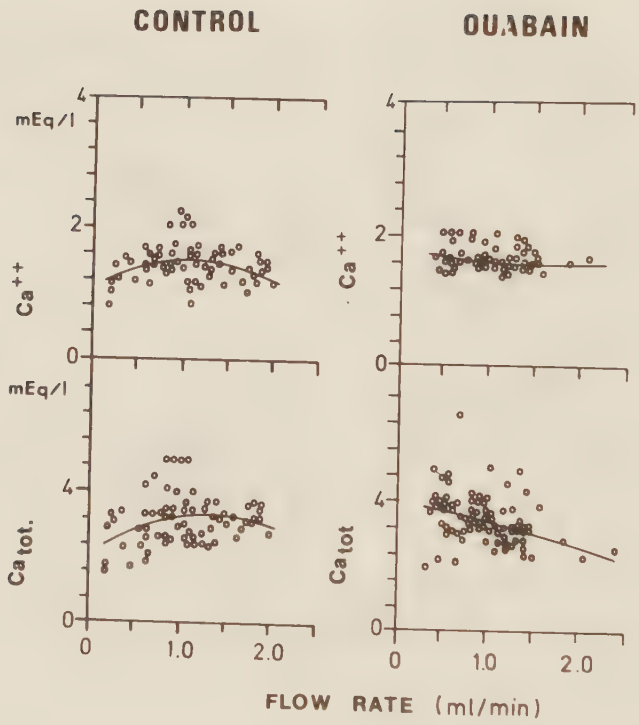

Abb. 18: Flußratenabhängige Darstellung der Calciumionen- und Totalcalciumkonzentrationen unter Ouabain

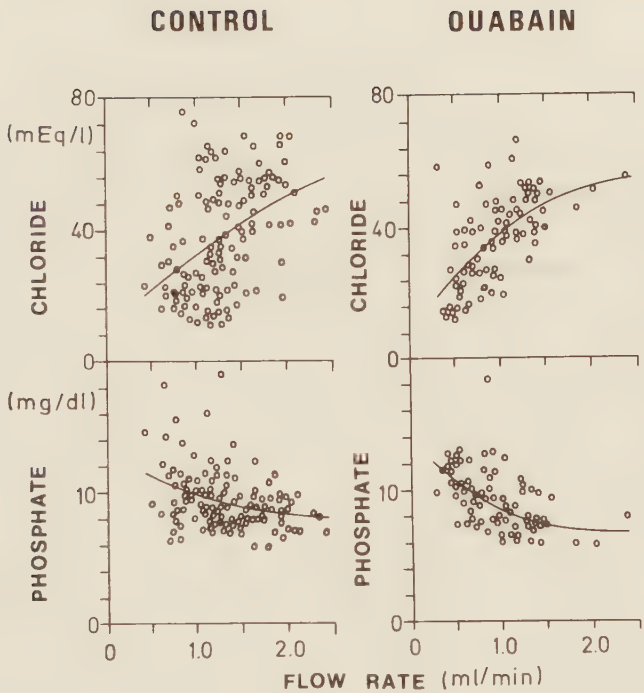

Abb. 19: Flußratenabhängige Darstellung der Chloridionen- und Phosphatkonzentrationen unter Ouabain

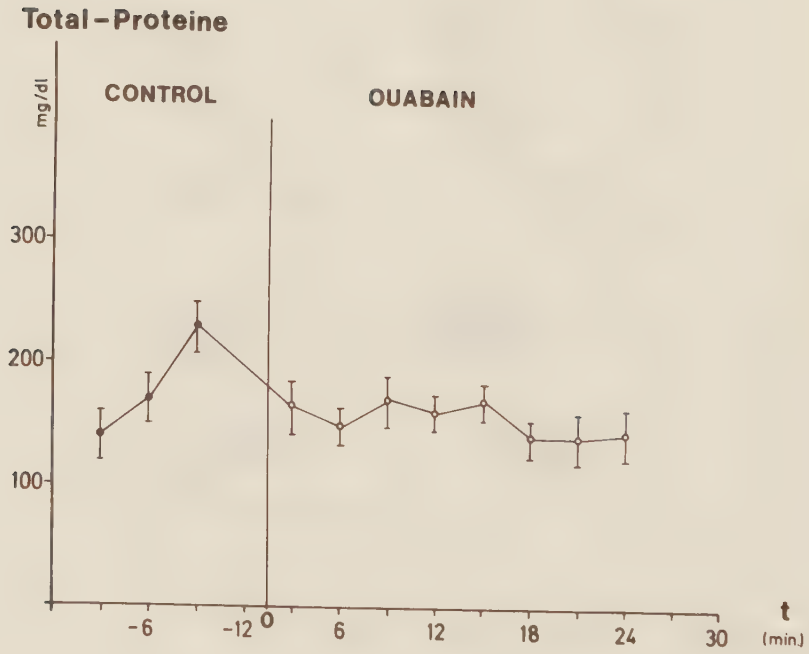

Abb. 20: Totalprotein-Output unter Ouabain in Abhängigkeit von der Zeit

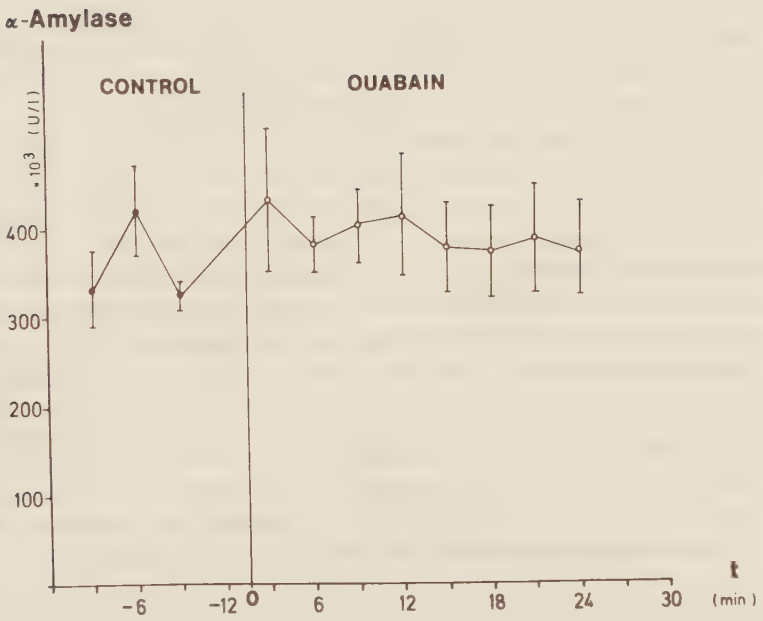

Abb. 21: α-Amylase-Output unter Ouabain in Abhängigkeit von der Zeit

Diskussion

Die pharmakodynamische Wirkung des Ouabain betrifft in erster Linie eine Beeinflussung der Na-K-aktivierbaren ATPase (43,48).

Klaus (43) nimmt folgende Funktionsweise der ATPase an: Das nicht-phosphorylierte Enzym befindet sich an der intrazellulären Seite der Zellmembran und besitzt in diesem Zustand Bindungsstellen, die eine hohe Affinität für Natriumionen haben. Mit Hilfe von ATP und in Anwesenheit von Mg^{2+}-Ionen wird die ATPase nun phosphoryliert, wobei sich der Konformationszustand des Enzyms dergestalt ändert, daß die mit Natriumionen besetzten Stellen auf die Außenseite der Membran gelangen. Dadurch wird die Affinität der entsprechenden Bindungsstellen für Na^+ herabgesetzt, für K^+ dagegen gesteigert. Beide Ionenarten werden also ausgetauscht. Danach erfolgt eine Dephosphorylierung, wodurch das Enzym in seinen ursprünglichen Konformationszustand zurückkehrt. Durch diese Konformationsänderung kommt es wiederum zu einer höheren Affinität für Natriumionen: Kaliumionen werden in den Intrazellulärraum abgegeben, Natriumionen dafür an spezifischen Bindungsstellen angelagert. Der Zyklus kann von neuem beginnen.

Klaus postuliert als Wirkprinzip des Ouabain den Angriff am phosphorylierten Zwischenprodukt, das dadurch in einen funktionsunfähigen Zustand überführt wird. Resultat ist eine eingeschränkte Transportkapazität für Natrium- und Kaliumionen.

In der menschlichen Parotis ist ein aktives Transportsystem, bei dem die Na-K-aktivierbare ATPase beteiligt ist, in den epithelialen Zellen des Gangsystems lokalisiert. Aufgabe dieses Transportsystems ist die Bildung eines hypotonen Speichelsekretes durch Reabsorption von Natriumionen (37,79).

In unserer Versuchsreihe wurde nun dieses Transportsystem durch Ouabain gehemmt und anschließend sowohl die Elektrolytausscheidung als auch der Protein-Output bestimmt.

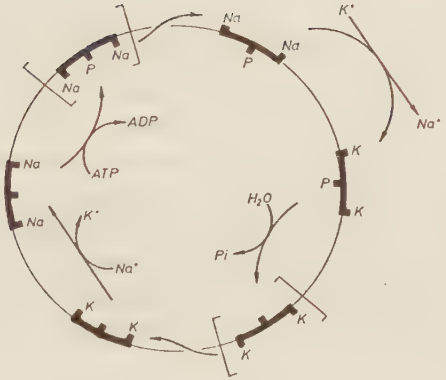

Abb. 27: Schematische Darstellung des Funktionszyklus der Na^+/K^+-aktivierbaren Membran-ATPase mit dem gerichteten Transport von Na^+ und K^+. Die hypothetischen Zwischenstufen bei der Konformationsänderung sind eingeklammert. Die Abbildung wurde einer Publikation von Klaus entnommen (43).

Unsere Befunde zeigten unter Ouabainwirkung eine Erhöhung der Natriumionenausscheidung, die Kaliumkonzentration war dagegen signifikant vermindert. Unter Berücksichtigung des weiter oben geschilderten Wirkungsmechanismus der ATPase lassen sich unsere Ergebnisse eindeutig auf die Hemmung der ATPase durch Ouabain zurückführen.

Weiter fanden wir eine erhöhte Calciumionenausscheidung und dementsprechend eine Erhöhung des Totalcalcium unter Ouabain. Diese Beobachtung läßt sich nicht ohne weiteres aus der Hemmwirkung des Ouabain auf die ATPase herleiten. Zum einen könnte man eine direkte Beeinflussung des Calciumionentransportes durch

Ouabain annehmen. Allerdings ist dabei ungeklärt, an welchem Angriffspunkt Ouabain auf den Ca^{2+}-Transport einwirken soll.

Andererseits wäre ein indirekter Einfluß der Ouabain-sensitiven Na-K-abhängigen ATPase auf die Calciumionen-konzentration denkbar. Ein verändertes intrazelluläres Na/K-Verhältnis, hervorgerufen durch Hemmung der ATPase mittels Ouabain, könnte in Abhängigkeit von der Natriumkonzentration die Mobilisation von Ca^{2+} aus intrazellulären Speichern fördern. Zu entsprechenden Ergebnissen gelangten Afari et al. (1) bei Versuchen an der Rattenparotis. Die genaue Ursache der erhöhten Calciumionenausscheidung unter Ouabainapplikation wird noch zu untersuchen sein.

Klinische Beobachtungen und die Suche nach leicht durchführbaren Bestimmungsmethoden zum Nachweis latenter und manifester Digitalis-intoxikationen lenkten schon früh die Aufmerksamkeit auf die veränderte Speichelzusammensetzung unter Herzglykosidbehandlung (10). Übereinstimmend wird über eine signifikant erhöhte Calciumionen-ausscheidung im Speichel berichtet (6,10,11,63,78,89).

Abweichend von unseren Befunden beschrieben einige Autoren eine erhöhte Kaliumexkretion (11,63,78). Dabei ist zu bedenken, daß sich die klinischen Mitteilungen auf Patienten mit latenter oder manifester Herzdekompensation stützen, die bekanntlich mit einem Hyperaldosteronismus einhergeht.

IV. 4: Einfluß eines Ca-Antagonisten (Verapamil) (n = 10)

Isoptin^{R} (Verapamil) wurde in einer Dosis von 5 mg intravenös appliziert.

Natrium

Bei Anwendung des T-Testes konnte kein signifikanter Unterschied der Natriumausscheidung in Abhängigkeit von der Flußrate unter Verapamil (37,7 $\pm$ 21,5 mEq/l) verglichen mit den Kontrollwerten (39,5 $\pm$ 26,7 mEq/l) gefunden werden.

Kalium

Die Kaliumkonzentrationen unter Verapamil waren geringfügig vermindert (Verapamil: 12,5 $\pm$ 2,4 mEq/l, Kontrolle: 15,9 $\pm$ 4,2 mEq/l). Bei niedrigen Flußraten (bis 0,5 ml/min) lagen die Konzentrationen leicht über der Norm, um dann bis zu Flußraten von 1,5 ml/min stärker abzufallen. Der Anstieg der Kaliumwerte während Isoptin^{R}-Applikation bei Flußraten um 2ml/min läßt sich nicht sicher beurteilen, da die Anzahl der Meßwerte in diesem Bereich sehr gering war.

Ca^{2+}

Die unter Verapamil gewonnenen Speichelproben zeigten eine hochsignifikante erhöhte Ca^{2+}-Ausscheidung (2,2 $\pm$ 0,5 mEq/l). Die Konzentrationen lagen durchschnittlich um 1 mEq/l über den Normalwerten (1,4 $\pm$ 0,28 mEq/l). Unter Verapamil fielen dann die Konzentrationen mit zunehmender Flußrate relativ steil ab.

Totalcalcium

Ebenso ergaben sich beim Totalcalcium mit einem Mittelwert von (3,6 $\pm$ 0,4 mEq/l) deutliche Veränderungen gegenüber den Kontrollen (3,1 $\pm$ 0,7 mEq/l).

Chlorid

Die Chloridkonzentration (29,9 ± 11,9 mEq/l) entsprach im wesentlichen den Werten, die auch bei den Kontrollen gemessen wurden (37,9 ± 17,0 mEq/l).

Phosphat

Auch bei der Phosphatausscheidung (9,8 ± 1,8 mg/dl) ließ sich kein Unterschied feststellen (Mittelwert: 9,5 ± 2,2 mg/dl).

Totalprotein

Unter Isoptin^{R} war der mittlere Protein-Output mit 244,6 ± 49,6 mg/dl gegenüber dem Kontrollwert mit 251,4 ± 45,0 mg/dl nicht verändert.

α-Amylase

Die α-Amylase-Konzentration verhielt sich ähnlich der des Totalprotein. Der mittlere Kontrollwert lag bei 427,8 x 10^3 ± 136,5 10^3 U/l, die mittlere -Amylase-Ausscheidung unter Verapamil bei 459,1 x 10^3 ± 80,6 x 10^3 U/l.

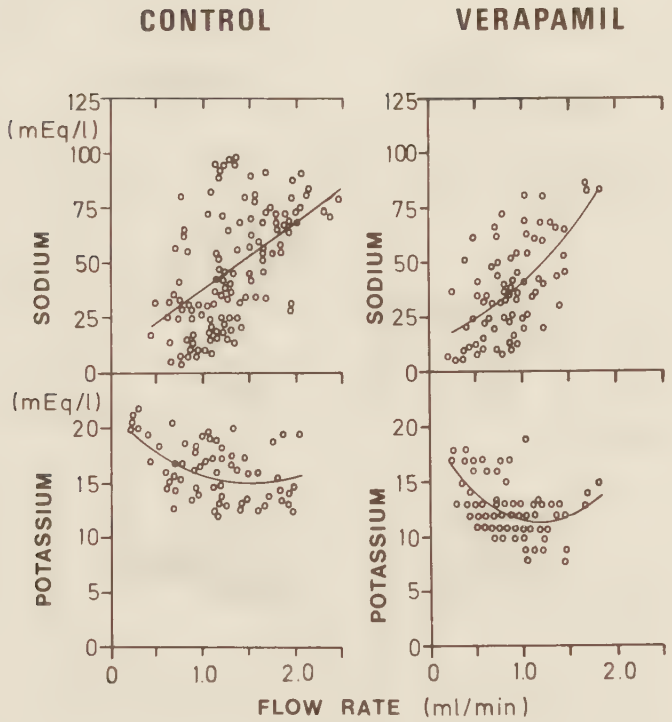

Abb. 22: Flußratenabhängige Darstellung der Natrium- und Kaliumkonzentrationen unter Verapamil (Isoptin^{R})

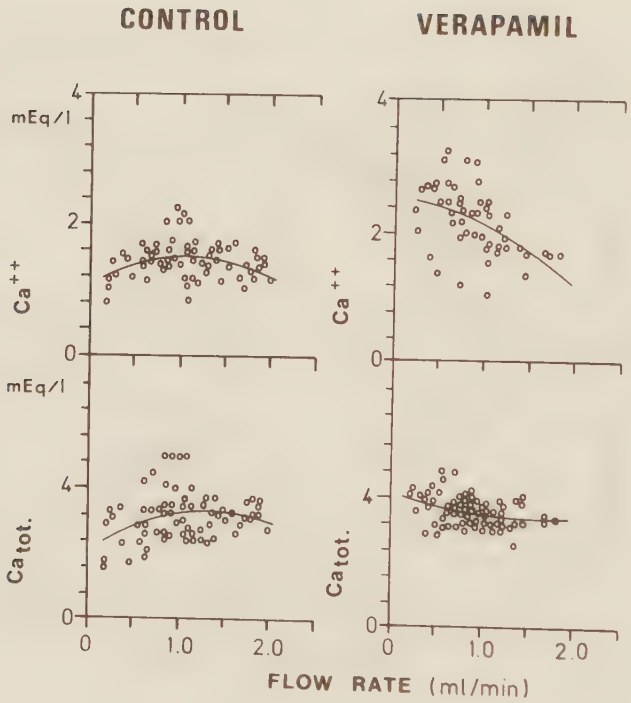

Abb. 23: Flußratenabhängige Darstellung der Calciumionen- und Totalcalciumkonzentrationen unter Verapamil (Isoptin^{R})

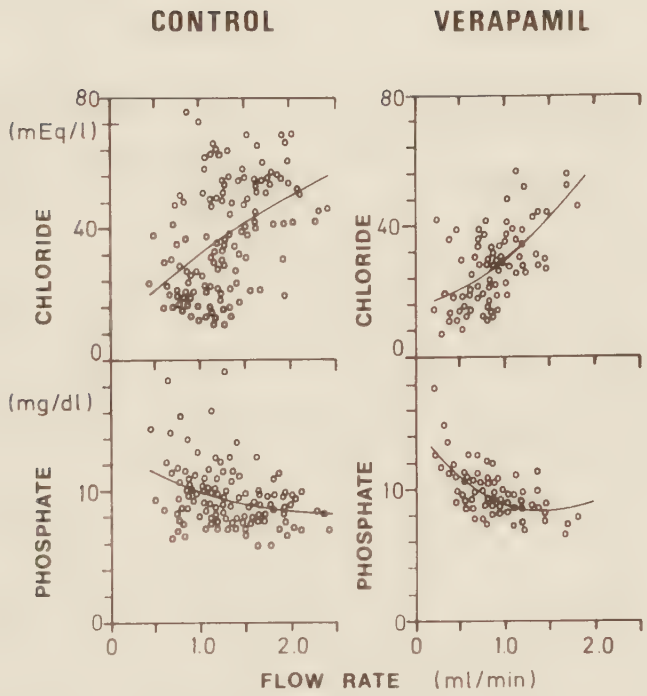

Abb. 24: Flußratenabhängige Darstellung der Chloridionen- und Phosphatkonzentrationen unter Verapamil (Isoptin^{R})

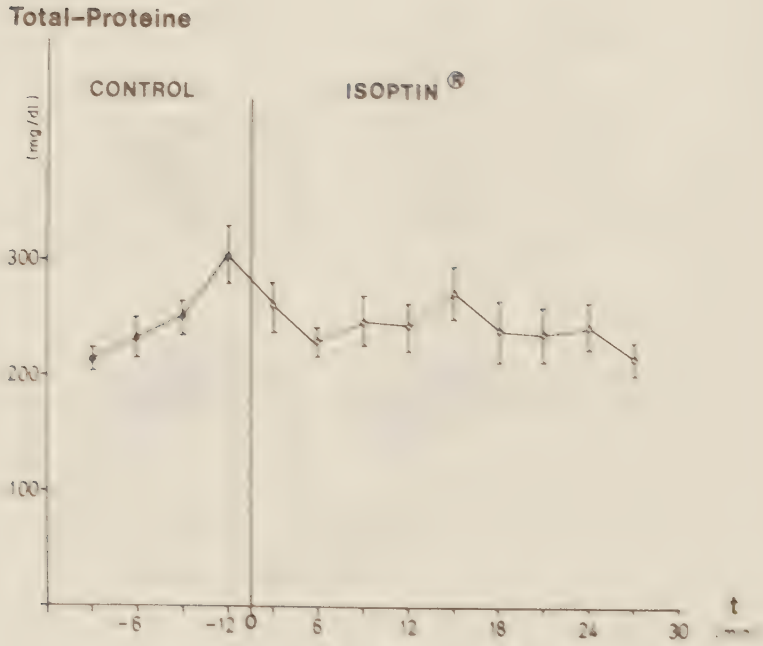

Abb. 25: Totalprotein-Output unter Verapamil (Isoptin®) in Abhängigkeit von der Zeit

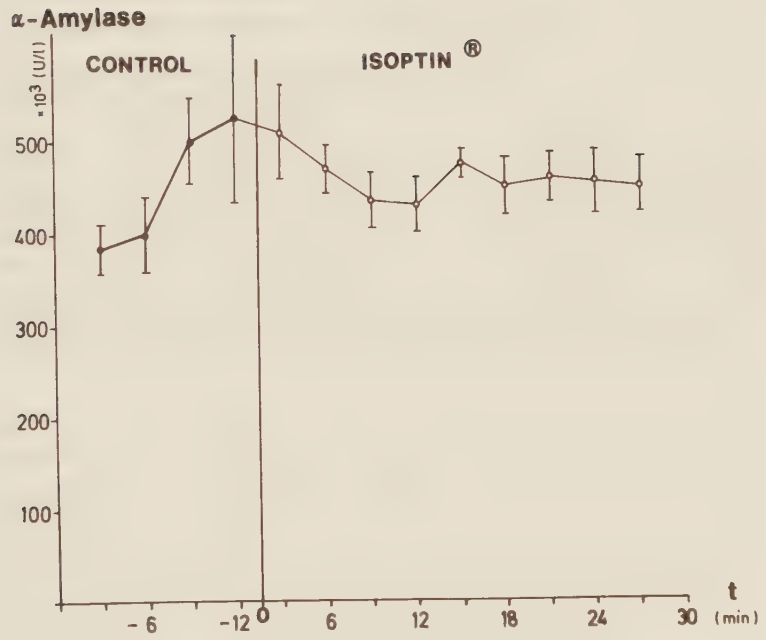

Abb. 26: α-Amylase-Output unter Verapamil (Isoptin^{R}) in Abhängigkeit von der Zeit

Diskussion

Der Ca^{2+}-antagonistische Effekt des Verapamil ist schon seit längerem bekannt (24,40,42). Frühere Arbeiten beschäftigten sich in erster Linie mit der Wirkung des Ca^{2+}-Antagonismus auf die elektro-mechanische Koppelung sowie ihre klinische Anwendbarkeit (22,23,33).

In der vorliegenden Versuchsreihe sollte geprüft werden, ob der Ca^{2+}-antagonistische Effekt des Verapamil zu einer Beeinflussung der Calciumionenkonzentration im Speichel der Parotisdrüse und des Ausscheidungsmusters der übrigen Inhaltsstoffe führt. Wie Abb. 23 verdeutlicht, kam es unter Verapamil zu einer verstärkten Ausscheidung von Calciumionen (23). Dabei erreichte die Calciumionenkonzentration im Hauptausführungsgang annähernd die Konzentration des Plasma. Geht man nun von der Annahme aus, daß die Ca^{2+}-Konzentration im Primärsekret der Plasmacalciumkonzentration entspricht, so wie es Thaysen (79) für das Verhalten der Natriumionen postuliert hat, würde Verapamil die Reabsorption von Calciumionen im Gangsystem der Speicheldrüse hemmen (19,30).

Als Angriffspunkt des Verapamil auf zellulärer Ebene wird dabei eine Beeinflussung des transmembranären Calciuminflux angesehen. Fleckenstein et al. (24) nehmen für das Zustandekommen des calciumantagonistischen Effekts von Verapamil am Myokard einen reversiblen Verschluß spezifischer Ca^{2+}-Kanäle an, wobei jedoch die Natriumkanäle wahrscheinlich unbeeinflußt bleiben. Die Blockade dieser Ca^{2+}-Kanäle im Gangsystem dürfte die von uns unter Isoptin^{R}-Applikation beobachtete Ca^{2+}-Konzentrationserhöhung verursachen.

Der deutlich Abfall der Ca^{2+}-Konzentration mit zunehmender Flußrate läßt an einen Verdünnungseffekt denken (Abb. 23).

Das ebenfalls erhöhte Totalcalcium beruht wohl zum größten Teil auf der Erhöhung des Anteils an ionisiertem Calcium, da für das

proteingebundene Calcium ein leicht verminderter prozentualer Anteil angenommen werden kann. Dies läßt sich aus dem unveränderten Protein-Output unter Isoptin^{R} entnehmen.

Aus diesen Überlegungen kann man schließen, daß die protein- und komplexgebundenen Calciumfraktionen für die Reabsorptionsvorgänge von geringer Bedeutung sind.

Die Chlorid- und Phosphatkonzentrationen blieben von der calciumantagonistischen Wirkung des Isoptin^{R} unbeeinflußt.

Der unveränderte Protein- und α-Amylase-Output unter Verapamil kann die von einigen Untersuchern beschriebene mögliche ß-Rezeptoren-blockierende Komponente dieses Wirkstoffes nicht bestätigen (24,40,42). Die in unseren Versuchen hochsignifikant gestiegene Calciumionenausscheidung bei Gabe von Isoptin^{R} besitzt unter klinischem Gesichtspunkt einiges Interesse. Unsere Befunde legen nahe, einen Zusammenhang zwischen langjähriger Behandlung von Coronarinsuffizienzen mit Calciumantagonisten und der Zahnstein- bzw. Speichelsteinbildung in Betracht zu ziehen (58).

V. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden die beiden gebräuchlichsten Stimulationsarten des Speichelsekrets (Pilocarpin und Zitronensäure) auf die Ausscheidung von ionisiertem Calcium und anderen Komponenten des Parotisspeichels getestet. Weiter wurden der Einfluß einer ß-Rezeptoren-Stimulation (Isoproterenol), einer ß-Rezeptoren-Hemmung (Propanolol), sowie einer Calcium-antagonistischen Substanz (Verapamil) auf die Elektrolytzusammensetzung und den Protein-Output analysiert. Anschließend wurde der Effekt einer Beeinflußung der Na-K-ATPase durch Ouabain auf das Ionenmuster des Speichels untersucht.

Folgende Resultate wurden erzielt:

Unter Pilocarpinstimulation war die flußratenbezogene Ausscheidung von Ca^{2+}, Totalcalcium, Natrium, Totalprotein und α-Amylase wesentlich höher als unter Zitronensäurestimulation. Andererseits fand sich im Zitronensäure-Speichel eine signifikant vermehrte Kalium-Konzentration.

ß-adrenerge Stimulation steigerte die Totalcalcium-Exkretion ohne Beeinflussung des ionisierten Calcium. Die flußratenbezogene Natrium-Konzentration war bei ß-Rezeptoren-Stimulation erniedrigt. Blockade der ß-Rezeptoren bewirkte eine verminderte Ausscheidung von α-Amylase und Proteinen. Die Konzentration von Total-Calcium blieb gleich, wobei der Anteil an ionisiertem Calcium leicht erhöht war.

Die Wirkung einer calciumantagonistischen Substanz (Verapamil) zeigte sich in einer stark erhöhten Ausscheidung von ionisiertem Calcium.

Hemmung der Na-K-aktivierbaren ATPase dank Ouabain resultierte in einer erhöhten Natrium- und in einer verminderten Kaliumausscheidung. Die Calciumionenkonzentration war deutlich angestiegen.

Anhang: Vergleich der Kurven mit den Kontrollen

	Isoproterenol	Propanolol	Ouabain	Verapamil
Na^+	+	++	++	-
K^+	-	-	++	-
Ca^{2+}	-	+++	+	+++
Cl^-	++	-	-	-
PO_4^-	-	-	-	-
Ca_{tot}	++	-	-	+++

+: signifikant (p 0,1)

++: deutlich signifikant (p 0,01)

+++: hochsignifikant (p 0,001)

Meinem Lehrer, Herrn Prof. Dr. med. A. Heidland, danke ich für die Überlassung des Themas sowie die ständige Bereitschaft, mich bei den bei der Bearbeitung entstandenen Fragen und Problemen zu führen und zu leiten.

Herrn Prof. Dr. med. K. Kochsiek, Direktor der Medizinischen Universitätsklinik, danke ich für die Übernahme des Koreferates.

Herzlicher Dank gilt Herrn Dr. med. H. Maier für zahlreiche hilfreiche Ratschläge und kollegiale Zusammenarbeit bei der Durchführung der Versuche.

VI. Literaturverzeichnis:

1. AFARI, G., A. TENENHOUSE, J. KLEIN: The effect of ouabain and of Ca^{2+}-deprivation on isoproterenol- and DBcAMP-stimulated protein secretion from the superfused rat parotid gland.
Can. J. Physiol. Pharmacol. Vol.55, 419-426 (1977)

2. AHRENS, G., H. LÜCKE: The effects of stimulation and time of day on the calcium concentrations in human parotid and submandibular saliva.
Caries Res. 6, 148-155 (1972)

3. ALLARS, H.M., J. BLOMFIELD, A.R. RUSH, J.M. BROWN: Colloid and crystal formation in parotid saliva of cystic fibrosis patients and non-cystic fibrosis subjects.
I. Physiochemistry
Pediat. Res. 10, 578-584 (1976)

4. ALLARS, H.M., D.J.H. COCKAYNE, J. BLOMFIELD, A.R. RUSH, E.W. van LENNEP, J.M. BROWN: Colloid and crystal formation in parotid saliva of cystic fibrosis patients and non-cystic fibrosis subjects.
II. Electron microscopy and electrophoresis
Pediat. Res. 10, 584-594 (1976)

5. ANDRÉ, F., F. DESCOS, C. ANDRÉ, R. LAMBERT: Salivary secretion in evolutive and quiescent duodenal ulcer.
Digestion 11, 98-104 (1974)

6. AVISSAR, R., R. MENACHÉ, E. MANDEL, I. RUBINSTEIN, M. DJALDETTI: Increased salivary calcium levels as an indicator of digoxin intoxication.
Arch. Intern. Med. 135, 1029-1032 (1975)

7. BATZRI, S., Z. SELINGER, M. SCHRAMM: Potassium ion release and enzyme secretion: Adrenergic regulation by α- and ß-receptors.
Science 174, 1029-1031 (1971)

8. BHOOLA, K.D., M.W. McNICL, S. OLIVER, J. FORAN: Changes in salivary enzymes in patients with sarcoidosis.
New Engl. J. Med. 281, 877-879 (1969)

9. BOAT, T.F., U.N. WIESMAN, J.CH. PALLAVICINI: Purification and properties of the calcium-precipitable protein in submaxillary saliva of normal and cystic fibrosis subjects.
Pediat. Res. 8, 531-539 (1974)

10. BOLTE, H.-D., R. BUCHESFELD, P.K. LANKISCH, D. LARBIG: Speichelelektrolyte und Glykosidintoxikation.
Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 79, 1047-1050 (1973)

11. BOLTE, H.-D., P.G. LANKISCH, R. BUCHESFELD, D. LARBIG: Speichelelektrolyte (Natrium, Kalium, Calcium) bei Herzglykosidbehandlung.
Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 78, 1603-1605 (1972)

12. BOURNE, H.R., P.T. THOMSON, K.L. MELMON: Diagnosis and treatment of beta-adrenergic receptor hyperresposiveness.
Arch. Intern. Med. 125, 1063-1066 (1970)

13. CESKA, M., K. BIRATH, B. BROWN: A new and rapid method for the clinical determination of α-amylase activities in human serum and urine optimal conditions.
Clin. Chim. Acta 26, 437-444 (1969)

14. CESKA, M., E. HULTMANN, B.G.A. INGELMAN: A new method for determination of α-amylase.
Experimentia 25, 555-556 (1969)

15. CESKA, M., B. BROWN, K.BIRATH: Ranges of α-amylase activities in human serum and urine and correlations with some other α-amylase methods.
Clin. Chim. Acta 26, 445-453 (1969)

16. DAWES, C.: Circadian rhythms in human salivary flow rate and composition.
J. Physiol. 220, 329-545 (1972)

17. DAWES, C., F.S. CHEBIB: The influence of previous stimulation and the day of the week on the concentrations of protein and the main electrolytes in human parotid saliva.
Archs. oral Biol. 17, 1289-1301 (1972)

18. DAWES, C., G.N. JENKINS: The effects of different stimuli on the composition of saliva in man.
J. Physiol. 170, 86-100 (1964)

19. DREISBACH, R.H.: Secretion of calcium by rat submandibular gland.
Am. J. Physiol. 196, 645-648 (1959)

20. FERGUSON, D.B., A. FORT: Circadian variations in calcium and phosphate secretion from human parotid and submandibular salivary glands.
Caries Res. 7, 19-29 (1973)

21. FISKE, C.H., Y. SUBARROW: The colorimetric determination of phosphorus.
J. Biol. Chem. 66, 375-400 (1925)

22. FLECKENSTEIN, A.: Die Zügelung des Myokardstoffwechsels durch Verapamil.
Angriffspunkte und Anwendungsmöglichkeiten.
Drug Res. 20, 1317-1322 (1970)

23. FLECKENSTEIN, A., G. GRÜN, H. TRITTHARDT, K. BYON, P. HARDING: Uterus-Relaxation durch hochaktive Ca^{2+}-antagonistische Hemmstoffe der elektro-mechanischen Kopplung wie Isoptin (Verapamil, Iproveratril), Substanz D 600 und Segontin (Prenylamin).
Klin. Wschr. 49, 32-41 (1971)

24. FLECKENSTEIN, A., H. KAMMERMEIER, H.J. DÖRING, H.J. FREUND: Zum Wirkungsmechanismus neuartiger Koronardilatatoren mit gleichzeitig Sauerstoff einsparenden Myokard-Effekten, Prenylamin und Iproveratril.
Z. Kreislaufforschg. 56, 716-744, 839-858 (1967)

25. FORTH, W., D. HENSCHLER, W. RUMMEL: Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie.
Bibliographisches Institut Mannheim/Wien/Zürich 1975

26. FREEMAN, R.M., L.G. WELT: Parotid fluid calcium and phosphate levels in patients with hypercalcemia.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 120, 627-630 (1965)

27. FROHLICH, E.D., H.P. DUSTAN, R.C. ZARAZI: Hyperdynamic beta-adrenergic circulatory state.
Arch. Intern. Med. 126, 1068-1069 (1970)

28. FROHLICH, E.D., R.C. ZAZARI, H.P. DUSTAN: Hyperdynamic beta-adrenergic circulatory state.
Arch. Intern. Med. 123, 1-7 (1969)

29. FÜLGRAFF, G., O. HEIDENREICH, A. MEIFORTH: Mikropunktions-untersuchungen über die Wirkung von Ca-Ionen auf die Reabsorptionskapazität und auf die prozentuale Resorption im proximalen Konvolut von Ratten.
Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak. u. exp. Path.258, 440-451 (1967)

30. FÜLGRAFF, G., A. MEIFORTH: Calcium antagonistic effects of Compound D 600 on renal tubular reabsorption.
Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmacol. 276, 243-245 (1973)

31. GEORGE, C.F., M.E. CONOLLY, T.FEYVESI, R. BRIANT, C.T.DOLLERY: Intravenously administered isoproterenol sulfate dose-response curves in man.
Arch. Intern. Med. 130, 361-364 (1972)

32. GOW, B.S.: Analysis of metals in saliva by atomic absorption spectroscopy I. Calcium
J. dent. Res. 44, 885-894 (1965)

33. GRÜN, G., A. FLECKENSTEIN: Ca-antagonism, a new principle of vasodilatation.
Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak. 270 Supp R 48 (1971)

34. GUTMAN, D., H. BEN-ARYEH: The influence of age on salivary content and rate of flow.
Int. J. Oral Surg. 3, 314-317 (1974)

35. HAMILTON, T.C.: Modification of the vascular response to isoprenaline by cholinomimetic drugs.
Br. J. Pharmac. 42, 254-262 (1971)

36. HAY, D.I.: Some observations on human saliva proteins and their role in the formation of the acquired enamel pellicle.
J. Dent. Res. Supp. Vol. 48, 806-810 (1969)

37. HEIDLAND, A., W. DEININGER, K. REISSMANN, W. KREUSSER, E., HEIDBREDER: Influence of diuretics on electrolyte transport in salivary glands. Investigations in the perfused cat submandibular gland.
In: "Diuretics in research and clinics" Thieme Stuttgart 1977; Hrsg.: W. Siegenthaler, R. Beckerhoff, W.Vetter

38. HEIDLAND, A., W. KREUSSER, H. HENNEMANN, H. KNAUF, W. WIGAND: Changes of salivary electrolyte excretion in uremia.
UREMIA, An International Conference on Pathogenesis, Diagnosis and Therapy Ed. by R. Kluthe, G. Berlyne, B. Burton

39. HEIDLAND, A., W. KREUSSER, H. HENNEMANN, H. KNAUF, M.E. WIGAND: Excretion of the mono- and divalent ions in relation to flow rate in Bartter's and Pseudo Bartter's syndromes in parotid saliva. Comparative studies to the syndrome of Conn.
Klin. Wschr. 50, 958-966 (1972)

40. HEIM, F., F. WALTER: Die Wirkung von Verapamil auf Funktion und Stoffwechsel des asphyktischen Herzens.
Arzneimittelforschg., Aulendorf 18, 399-401 (1968)

41. KATZ, R.L., I.D. MANDEL: Action and interaction of isoproterenol and alpha and beta adrenergic blockers on parotid and submaxillary secretions in man. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 128, 1140-1145 (1968)

42. KAUFMANN, G.: Medikamentöse Therapie tachykarder Rhythmusstörungen. Schweiz. med. Wschr. 106, 607-612 (1976)

43. KLAUS, W.: Wirkungsweise und Wirkort der Herzglykoside. In: "Digitalistherapie - Beiträge zur Pharmakologie und Klinik" Hrsg. H. Jahrmärker, Springer 1975

44. KNAUF, H., E. FROEMTER: Die Kationenausscheidung der großen Speicheldrüsen des Menschen. Pflüg. Arch. 316, 213-237 (1970)

45. KREUSSER, W., A. HEIDLAND, H. HENNEMANN: Mono- and divalent electrolyte patterns, pCO_2 and pH in relation to flow rate in normal human parotid saliva. Europ. J. clin. Invest. 2, 398-406 (1972)

46. KREUSSER, W., A. HEIDLAND, H. HENNEMANN, M.E. WIGAND: Die Speichelchemie beim primären Hyperaldosteronismus (Conn-Syndrom). Arch. klin. exp. Ohr.-Nas.-Kehlk.-Heilk. 202, 430-434 (1972)

47. KREUSSER, W., A. HEIDLAND, H. HENNEMANN, H. KNAUF, M.E.WIGAND: Speichelelektrolyte und Flußrate bei terminaler Niereninsuffizienz. Arch. klin. exp. Ohr.-Nas.-Kehlk.-Heilk. 199, 614-619 (1971)

48. KÜBLER, W.: Die Wirkung der Digitalisglykoside auf die Na^+, K^+ aktivierbare ATPase des Reizleitungssystems und der Arbeitsmuskulatur. In: "Digitalistherapie - Beiträge zur Pharmakologie und Klinik" Hrsg. H. Jahrmärker, Springer 1975

49. LOWRY, O.H., N.J. ROSEBROUGH, A.L. FARR, R.J. RANDALL: Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193, 265-275 (1951)

50. MAIER, H., G. ANTONCZYK, A. HEIDLAND: A comparison of electrolyte and protein excretion pattern in pilocarpine and citric acid stimulated human parotid saliva. In Druck

51. MAIER, H., G. ANTONCZYK, J.G. SCHINDLER, A. HEIDLAND: The effect of verapamil on ionized calcium excretion in human parotid saliva. Eur. J. Clin. Pharmacol. 16, 7-9 (1979)

52. MAIER, H., G. ANTONCZYK, M. GEISSLER, J.G. SCHINDLER, A. HEIDLAND: Uremia induced alterations of ionized calcium transport in the human parotid gland. Fourth Internat. Workshop on Phosphate and other Minerals 1979. Miner. Electrol. Metab. 2, 248, Nr. 97 (1979)

53. MAIER, H., M.T. CORONEO, G. ANTONCZYK, A. HEIDLAND: The flow-rate dependent excretion of ionized calcium in parotid saliva. Arch. oral Biol. 24, 224 (1979)

54. MAIER, H., M.T. CORONEO, A. HEIDLAND, M.E. WIGAND: Ionisiertes Calcium und Gesamtcalcium im Parotisspeichel bei Normalpersonen und essentiellen Hypertonikern. Laryng. Rhinol. 57, 1013-1017 (1978)

55. MAIER, H., M.T. CORONEO, A. RÖCKEL, A. HEIDLAND: Die Flußraten-abhängige Bestimmung des ionisierten Calciums im menschlichen Parotisspeichel mit Ca^{++}-selektiven Disk-Elektroden. Verh. deutsch. Ges. f. HNO-Heilk., 1978

56. MAIER, H., A. RÖCKEL, A. HEIDLAND, D. SCHNEIDER, CH. STEFFEN, O. AZIZ, R. DENNHARDT, H.-O. LINDT, J.G. SCHINDLER: Untersuchungen zur Leistungsfähigkeit calciumselektiver Disk-Elektroden mit elektrisch geladenen und neutralen Liganden bei anaeroben Serummessungen. Res. exp. Med. 107, 1-7 (1977)

57. MAIER, H., A. RÖCKEL, G. SCHMID, A. HEIDLAND: A simplified method for measurement of Ca^{++}-activity in serum, using serum-monovettes^{R} and a Ca^{++}-selective disk-electrode. Res.exp.Med. 173, 297-299 (1978)

58. MAIJER, R., G.A. KLASSEN: Ionized calcium concentration in saliva and its relationship to dental disease. J. Canad. Dent. Assn. 9, 333-336 (1972)

59. MANDEL, I., R. KATZ: The effect of pharmacologic agents on salivary secretion and composition II.: Isoproterenol, α- and ß-adrenergic blockers. J. Oral Therap. and Pharmacol. 4, 260-269 (1968)

60. MANDEL, I., R. KATZ, A. ZENGO, A. KUTSCHER, R. GREENBERG, S. KATZ, R. SCHARF, A. PINTOFF: The effect of pharmacologic agents on salivary secretion and composition in man I.: Pilocarpine. J. Oral Therap. and Pharmacol. 4, 192-199 (1968)

61. MARDER, M.Z., D.C. ABELSON, I.D. MANDEL: Salivary alterations in Diabetes Mellitus. J. Periodontol. 46, 567-569 (1975)

62. MATTHIESEN, H.-H.: Enzym- und Elektrolytsekretion der menschlichen Parotis nach ß-adrenerger Stimulation und -Suppression. Inaugural-Dissertation Würzburg 1976

63. MÜNZEL, M.: Die Biochemie der menschlichen Speicheldrüse.
Arch. Oto-Rhino-Laryng. 213, 209-285 (1976)

64. PRADER, A., E. GAUTIER, D. NÄF, J.M. SEMER, E.J. ROTHSCHILD:
The Na und K concentration in mixed saliva: Influence of secretion rate, stimulation, method of collection, age, sex, time of day and adrenocortical activity.
Ciba Foundation Colloquia on Endocrinology 8, 382-394 (1953)

65. PRUITT, K.M., R.C. CALDWELL, A.D. JAMIESON, R.E. TAYLOR: The interaction of salivary proteins with tooth surface.
J. Dent. Res. Supp to No. 5, Vol 48, 818-823 (1969)

66. PUSKULIAN, L.: Salivary electrolyte changes during the normal menstrual cycle.
J. Dent. Res. 51, 1212-1216 (1972)

67. RAND, M.J., B. VARMA: The effects of cholinomimetic drugs on responses to sympathetic nerve stimulation and noradrenaline in the rabbit ear artery.
Br. J. Pharmac, 38, 758-770 (1970)

68. SALT, W.B., S.SCHENKER: Amylase- its clinical significance: a review of the literature.
Medicine 55, 269-289 (1976)

69. SELINGER, Z., E. NAIM: The effect of calcium on amylase secretion by rat parotid slices.
Biochim. Biophys. Acta 203, 335-337 (1970)

70. SCHINDLER, J.G.: Multimeßsystem für die elektrochemische Analyse strömender Flüssigkeiten und Gase.
Biomed. Techn. 22, 235-244 (1977)

71. SCHINDLER, J.G., W. RIEMANN: Calciumselektive Scheiben-Elektrode für Durchflußmessungen.
Biomed. Techn. 20, 76-77 (1975)

72. SCHINDLER, J.G., W. RIEMANN: Elektrochemische Multimeßsysteme für Physiologie und Medizin.
Verlag Görich und Weihershäuser, Marburg (Lahn)
1. Auflage 1977

73. SCHNEYER, C.: Salivary gland changes after isoproterenol-induced enlargement.
Am. J. Physiol. 203, 232-236 (1962)

74. SCHNEYER, C.A.: Modification of the action of pilocarpine by adrenergic blocking agents.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 120, 230-232 (1965)

75. SCHNEYER, C.A., D.H. HALL: Automatic pathways involved in a sympathetic-like action of pilocarpine on salivary composition.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 121, 96-100 (1966)

76. SCHNEYER, L.H., J.A. YOUNG, C.A. SCHNEYER: Salivary secretion of electrolytes.
Physiol. Rev. 52, 720-777 (1972)

77. SOMOGYI, M.: Modifications of two methods for the assay of amylase.
Clinical Chemistry 6, 23-35 (1960)

78. SWANSON, M., L. CACACE, G. CHUN, M. ITANO: Saliva calcium and potassium concentrations in the detection of digitalis toxicity.
Circulation 48, 736-743 (1973)

79. THAYSEN, J.H., N.A. THORN, I.L. SCHWARTZ: Excretion of sodium, potassium, chloride and carbon dioxide in human parotid saliva.
Am. J. Physiol. 178, 155-159 (1954)

80. TENDELENBURG, U.: The action of histamine and pilocarpine on the superior cervical ganglion and the adrenal glands of the cat.
Br. J. Pharmacol. 9, 481-487 (1954)

81. van der WAERDEN, B.L.: Mathematische Statistik.
Springer 1971, 3. Auflage

82. VOGEL, J.J., R. NAUJOKS, F. BRUDEVOLD: The effective concentrations of calcium and inorganic orthophosphate in salivary secretions.
Arch. oral Biol. 10, 523-534 (1965)

83. WALIS, W.A., H.V. ROBERTS: Methoden der Statistik - Ein neuer Weg zu ihrem Verständnis.
Rudolf Haufe Verlag Freiburg i.Br. 1962, 2. Auflage

84. WEISSEL, M., H. FRITZSCHE, G. FUCHS: Wertigkeit der Speichelelektrolyte bei der Objektivierung von Digitalisintoxikationen.
Wien. med. Wschr. 88, 455-458 (1976)

85. WIESMANN, U.N., T.F. BOAT, P.A. DI SANT`AGNESE: Flow-rates and electrolytes in minor-salivary-gland saliva in normal subjects and patients with cystic fibrosis.
Lancet 2, 510-512 (1972)

86. WIGAND, M.E., J. WINCKLER, A. HEIDLAND: Speichelchemie und Katecholamingehalt adrenerger Nerven der Parotisdrüse bei chronischer Parotitis und Sjögren-Syndrom.
Arch. klin. exp. Ohr.-Nas.-Kehlk.-Heilk. 205, 109-113 (1973)

87. WINCKLER, J., H. HENNEMANN, A. HEIDLAND, M.E. WIGAND: Katecholamingehalt adrenerger Nerven in Speicheldrüsen mit gestörter Elektrolytausscheidung bei Urämie.
Klin. Wschr. 51, 1115-1123 (1973)

88. WINER, R.A., R.P. FELLER: Composition of parotid and submandibular saliva and serum in Down`s syndrome. J. Dent. Res. 51, 449-454 (1972)

89. WOTMAN, S., J.T. BIGGER, I.D. MANDEL, H.J. BARTELSTONE: Salivary electrolytes in the detection of digitalis toxicity. New Engl. J. Med. 285, 871-876 (1971)

90. WOTMAN, S., I.D. MANDEL, J. MERCADANTE, C.R. DENNING: Parotid and submaxillary calcium in human cystic fibrosis. Archs. oral Biol. 16, 663-665 (1971)

91. YOSHIDA, H., N. MIKI, H. ISHIDA, I. YAMAMOTO: Release of amylase from zymogen granules by ATP and a low concentration of Ca^{2+}. Biochim. Biophys. Acta 158, 489-490 (1968)

92. YOUNG, J.A., E. SCHÖGEL: Micropuncutre investigation of sodium and potassium excretion in rat submaxillary saliva. Pflüg. Arch. 291, 85-98 (1966)

93. ZENGO, A.N., I.D. MANDEL, A. SOLOMON, P. BLOCK: Chemistry of rat saliva following isoproterenol administration. J. Oral Therap. and Pharmacol. 4, 359-363 (1968)

Lebenslauf

Name:	S c h ö n e r , geb. Antonczyk
Vorname:	Gertrud
Geburtsdatum:	05.04.1955
Wohnort:	6450 Hanau 1
	Castellstraße 11 a
Eltern:	Johannes Antonczyk, Realschullehrer
	Martha Antonczyk, geb. Kohl
Schulbesuch:	1962-1966 Wilhelm-Geibel-Grundschule
	1966-1974 Gymnasium Karl-Rehbein-Schule
	Fremdsprachen: Englisch, Latein (Großes Latinum), Französisch und Russisch
	Oberstufe: mathematisch-naturwissenschaftlicher Zweig mit Physik als 4. Kernfach
	24.05.1974 Reifeprüfung
Studium:	WS 1974/75 Beginn des Studiums der Humanmedizin an der Julius-Maximilians-Universität in Würzburg
	zum 01.04.1975 Aufnahme in die Studienstiftung des deutschen Volkes
	27.08.1976 Ärztliche Vorprüfung
	26.08.1977 1. Abschnitt der ärztlichen Prüfung
	21.08.1979 2. Abschnitt der ärztlichen Prüfung
	Praktisches Jahr:
	15.10.1979-03.02.1980: Innere Medizin und
	04.02.1980-26.05.1980: Chirurgie im Städtischen Krankenhaus Aschaffenburg
	27.05.1980-15.09.1980: Wahlfach Neurologie
	07.10.1980 schriftlicher Teil und
	04.11.1980 mündlicher Teil des 3. Abschnitts der ärztlichen Prüfung
	07.11.1980 Erteilung der Approbation als Arzt
Eheschließung:	21.11.1980 Heirat mit dem Diplom-Geologen Fred Schöner

Gertrud Schöner

Dissertationsdruck
Schmitt & Meyer

Würzburg Ludwigkai 28a Tel. 7 23 80

Dissertationsdruck
Schmitt & Meyer

Würzburg Ludwigkai 28a Tel. 7 23 80